Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»

На правах рукописи

Белов Андрей Александрович

МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОМ СТРЕССЕ И КОРРЕКЦИИ СОСТОЯНИЯ ОРГАНИЗМА КОРОВ НИЗКОИНТЕНСИВНЫМ ЛАЗЕРНЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ

1.5.5 – физиология человека и животных

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель: доктор биологических наук, доцент Дерюгина Анна Вячеславовна

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Hb - гемоглобин

АМФ - аденозинмонофосфат

АОС - антиоксидантная система

АТФ - аденозинтрифосфорная кислота

АФК - активные формы кислорода

2,3 ДФГ - 2,3 дифосфоглицериновый альдегид

ЛИМ - лазерный интерференционный микроскоп

МДА - малоновый диальдегид

НИЛИ - низкоинтенсивное лазерное излучение

ОРХ - оптическая разность хода

ПОЛ - перекисное окисление липидов

Рн - фосфор неорганический

СОД - супероксиддисмутаза

ТБК - тиобарбитуровая кислота

ТХУ - трихлоруксусная кислота

ФП - фазовый портрет

цАМФ - циклическая АМФ

ЭФПЭ - электрофоретическая подвижность эритроцитов

GSH - глутатион

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1. Характеристика эритроцитов крупного рогатого скота, особенности их строения и метаболизма 1.1.1. Особенности метаболизма эритроцитов	11 18
1.1.2. Лазерная интерференционная микроскопия эритроцитов	21
1.2. Технологический стресс как фактор снижения продуктивности животных 1.3. Современные представления о механизмах влияния низкоинтенсивного лазерного излучения на биологические ткани	24 30
низкоинтенсивного лазерного излучения на опологические ткани	30
СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	36
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	36
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	45
3.1. Действие технологического стресса и НИЛИ на морфофункциональное состояние эритроцитов коров в условиях in vivo 3.2. Действие технологического стресса и НИЛИ на морфофункциональное состояние эритроцитов коров в условиях in vitro 3.3. Исследование морфоструктурного и функционального состояния модифицированных эритроцитов при стрессе и действии НИЛИ в условиях in vitro 3.4. Влияние технологического стресса и НИЛИ на физиолого-биохимические показатели крови крупного рогатого скота 3.4.1. Молочная продуктивность коров при стрессе и воздействии низкоинтенсивным лазерным излучением	45 60 65 77 83
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	87
ВЫВОДЫ	96
РЕКОМЕНДАЦИИ ПРОИЗВОДСТВУ	97
СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	98

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

В современной биологии одной из актуальных проблем является изучение различных аспектов влияния стресса на организм животных и человека. Стресс оказывает генерализованное повреждающее воздействие на организм, вызывает развитие стресс-индуцированных нарушений различных видов обмена (Romero, 2004; Mormède et al., 2007; Донник, 2021; Tallo-Parra et al., 2017; Elsasser et al., 2020).

Особую значимость проблема стресса приобретает в животноводстве. Под влиянием факторов, обусловленных элементами технологии содержания коров, возникает технологический стресс, оказывающий отрицательное влияние на здоровье и продуктивность животных (Ермакова, 2014; Трубников, 2015; Бусловская, 2019; Шамонина, 2021). Технологический 15-18%, стресс влечет потерю живой массы коров на молочная продуктивность падает на 10-30%, снижается резистентность (Волчков, 2000; Юрьев, 2007; Ярован, 2008; Ермакова, 2009; Улитько и соавт., 2019; Ламонов, 2022).

Важное значение при стрессе имеет изменение микроциркуляции, которое включает нарушение реологии крови, и является одной из существенных стадий в развитии патологического процесса. В свою очередь, наиболее важный вклад в реологию крови и микроциркуляторный гомеостаз вносят эритроциты (Romero, 2004; Mormede et al., 2007). Их морфофункциональные изменения сопровождаются нарушением текучести крови, что сказывается на кровоснабжении различных органов и тканей (Новицкий, 2004; Ибадуллаева и соавт, 2018; Nunomura, Takakuwa, 2006; Kim et al., 2009). Структурные перестройки эритроцитов являются эффективным механизмом регуляции самых разнообразных процессов в норме и при патогенезе различной этиологии, обеспечивая целенаправленный отклик организма на действие внешних и внутренних факторов (Мороз и соавт., 2012; Башук и

соавт., 2014; Боронихина, 2021). Кроме того, мембранные и метаболические процессы, протекающие в эритроцитах при стрессе и патологии, являются интегральным отражением реакции клеток на уровне целостного организма (Михайлис, 2009; Siems, 2000).

Тем не менее, в литературе отсутствуют сведения о комплексном подходе к исследованию изменений морфо-функциональных показателей эритроцитов коров при технологическом стрессе. Изучение механизмов изменений морфологичексих и метаболических показателей эритроцитов является важным при решении проблем возникновения и коррекции технологического стресса у животных.

В сельскохозяйственной биологии по прежнему существует проблема нивелирования действия технологического стресса. В настоящее время для повышения организма предложен широкий арсенал защитных сил антистрессовых препаратов для повышения адаптационных возможностей организма: стресс-протекторы (нейролептики, транквилизаторы, седативные средства), адаптагены, витаминные препараты (Ажмулдинов и соавт., 2017; 2019). Однако проблемы, Ляпин И соавт., возникающие использовании, являются непродолжительность действия, побочное влияние, возможное накопление этих веществ или продуктов их распада в организме животного. В связи с этим, поиск альтернативных безвредных для организма антистрессовых воздействий до настоящего времени остается одной из главных задач в профилактике стрессов.

На сегодняшний день низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ) широко применяется в различных областях ветеринарии (Балковой и соавт., 1998; Иноземцев, 2000; Бурдов и соавт., 2001; Казеев, 2002; 2003; Макаримов, 2002). Показано, что НИЛИ повышает естественную резистентность телят (Пайтерова и соавт., 2009; Дерюгина и соавт., 2018), благотворно влияет на ослабленных животных с более низкой массой тела (Сержантова, 2009; 2011), стимулирует активность гонадотропных желез (Романова, 2013; Беккулиев и

соавт., 2014). НИЛИ широко используется для профилактики и лечения послеродового эндометрита, мастита. Низкоинтенсивная лазерная терапия оказывает обезболивающее действие (Романова и соавт., 2013; Грига и соавт., 2014; Чекрышева и соавт., 2021; Alexandratou, 2003; Luo G-Y. et al., 2012). При этом единых протоколов использования НИЛИ, так же как и целостной концепции механизмов действия НИЛИ на организм животных разработано. Внедрение НИЛИ в животноводческую практику идет преимущественно эмпирическим путем. Изучение механизмов взаимодействия НИЛИ с живыми организмами и расширение сферы его применения актуально для дальнейшего развития науки (Залесская и соавт., 2018; Гизатуллина и соавт., 2019).

Целью исследования ставилось изучение механизмов морфометаболических изменений эритроцитов периферической крови коров при стрессе и действии низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) в качестве корректора функционального состояния организма животных.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

- 1. Исследовать динамику морфо-метаболических, электрокинетических показателей эритроцитов при технологическом стрессе и действии НИЛИ на фоне технологического стресса у высокопродуктивных коров.
- 2. Изучить влияние НИЛИ in vitro на показатели фазовой микроморфометрии и морфо-функциональные, электрокинетические показатели эритроцитов в условиях действия адреналина, кортизола, блокаторов α- и β- адренорецепторов, глутаровой фиксации клеток.
- 3. Установить возможность использования НИЛИ в активации адаптационных реакций организма животных к технологическому стрессу.

Научная новизна исследования.

При выполнении диссертационного исследования впервые:

- проведена комплексная фазовая микроморфометрия эритроцитов и их структурно-функциональных показателей при действия НИЛИ на фоне

технологического стресса у коров;

- показано, что эффекты воздействия НИЛИ на эритроциты коров in vitro определяются функционально-метаболическим состоянием эритроцитов и доказано влияние НИЛИ через различные регуляторные системы клеток;
- выявлена зависимость фазовой высоты и фазового диаметра эритроцитов от их окислительного и метаболического состояния, что позволяет в скрининговом режиме оценить функциональное состояние эритроцитов;
- определено, что непрерывный режим воздействия НИЛИ с длиной волны 830 нм в области уха в течение 5 и 15 минут ограничивает влияние технологического стресса на гематологические, биохимические, окислительные показатели периферической крови коров, молочную продуктивность и качество молока, более выраженно при 15-минутном воздействии.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Получены новые данные доказывающие зависимость реализации действия НИЛИ от состояния эритроцитов: в условиях действия адреналина при истощении клеток действие НИЛИ не эффективно, тогда как влияние НИЛИ на фоне кортизола повышениет адаптационные резервы клеток, что реализуется в росте энергетических, электрокинетических характеристик и снижении процессов липопероксидации.

Установлена оптико-геометрическими взаимосвязь между И структурно-метаболическими показателями эритроцитов. Доказанная интерференционной возможность использования микроскопии ДЛЯ диагностики функционального состояния эритроцитов, связана с внедрением в практику сельского хозяйства и ветеринарной медицины новейших методов исследования, что имеет первостепенное значение для развития отрасли животноводства.

Использование НИЛИ для предупреждения и компенсации нарушений,

возникающих при технологическом стрессе у коров, позволяет повысить продуктивность животных.

Основные результаты работы включены в соответствующие разделы спецкурсов и используются в ходе выполнения выпускных квалификационных работ студентами кафедры.

Методология и методы исследований. Для достижения поставленной цели и решения задач были использованы стандартные физиологические, биохимические, биометрические методы исследований с использованием современного оборудования. Методы, выбранные для исследования, а также способы их решения соответствуют современному методическому уровню лабораторных и экспериментальных исследований.

Основные положения, выносимые на защиту:

- 1. Фазовые изображения, мембранные показатели и функциональное состояние эритроцитов зависят от действия технологического стресса и НИЛИ.
- 2. Влияние адреналина, кортизола, блокаторов α- и β- адренорецепторов, глутаровой фиксации эритроцитов модулирует НИЛИ-индуцированные эффекты фазометрии и метаболизма эритроцитов in vitro.
- 3. Скрининговая диагностика состояния эритроцитов и оценка влияния НИЛИ на эритроциты реализуется путем анализа фазового диаметра и фазовой высоты эритроцитов крупного рогатого скота.
- 4. НИЛИ является эффективным средством коррекции технологического стресса у коров, что проявляется на клеточном и системном уровне и определяет повышение продуктивности животных.

Степень достоверности и апробации полученных результатов. представленных Достоверность научных результатов, выводов, В биологичекой диссертации, обусловлена использованием методов визуализации эритроцитов. Полученные данные подтверждены общепринятыми статистической обработки методами данных И

соответствуют выводам.

Основные материалы диссертационной работы представлены Международном форуме биотехнология: состояние и перспективы развития, 23-25 мая 2018, 2019 г. Москва; XV Международной научно-практической конференции «Агропромышленный комплекс: состояние, проблемы, перспективы», 2020; Международной научно-практической конференции «Теория и практика ветеринарной фармации, экологии и токсикологии в АПК», посвященной 100-летию кафедры фармакологии и токсикологии СПбГУВМ – Санкт-Петербург, 2021; «Наука, технологии, кадры – основы достижений прорывных результатов в АПК» Международной научнопрактической конференции (26 – 27 мая 2021 г.); 74-й Всероссийской с международным участием школы конференции молодых ученых, посвященной памяти проф. А.П. Веселова (Н. Новгород, 20–23 апреля 2021) г.) «Биосистемы: организация, поведение, управление»; «Стресс и здоровье человека», Всероссийской научно-практической конференции Национальный международным участием, исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, биологии биомедицины, 2021; 75-й Всероссийской И международным участием школы конференции молодых посвященной памяти проф. А.П. Веселова (Н. Новгород, 19–22 апреля 2022 г.) «Биосистемы: организация, поведение, управление».

Личный вклад автора. Автор лично участвовал в проведении экспериментов, обработке полученных данных, их обсуждении, а также совместно с соавторами участвовал в написании научных статей и апробации результатов исследования на научных конференциях. Лазерная интерференционная микроскопия выполнена совместно с начальником отделения медицинских изделий и микроскопии АО «Производственное объединение «Уральский оптико-механический завод им. Э.С. Яламова» к.физ.мат.н. Игнатьевым П.С. и ведущим научным сотрудником научно-

исследовательской лаборатории Московского областного научноисследовательского клинического института им. М.Ф. Владимирского к.б.н. Метелиным В.Б.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 37 печатных работ, из них 8 — в изданиях, рецензированных ВАК Министерства образования и науки РФ и 7 — в международной реферативной базе данных Scopus/WoS. Получен патент на изобретение РФ №2732759 от 22.09.2020 «Способ оценки стресс-реакции организма крупного рогатого скота».

Конкурсная поддержка работы. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №19-316-90066.

Объем и структура диссертации. Научная работа состоит из введения, глав: "Обзор литературы", "Материалы и методы исследования", «Результаты и обсуждения», выводов, рекомендаций производству, списка цитируемой литературы. Работа изложена на 122 страницах, иллюстрирована 11 рисунками и 18 таблицами. Список используемой литературы содержит 312 источников, их которых 96 источников иностранных.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 1.1. ХАРАКТЕРИСТИКА ЭРИТРОЦИТОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, ОСОБЕННОСТИ ИХ СТРОЕНИЯ И МЕТАБОЛИЗМА

Эритроциты – клетки, основной функцией которых является газообмен, образуются в красном костноммозге, откуда поступают в кровь со скоростью около 2,5х10⁶/с; в крови они функционируют в течение всего периода своей жизни (100-120 суток), проделывая с кровотоком путь более 1000 км и проходя через систему кровообращения более 100 тыс. раз, а затем разрушаются макрофагами селезенки, печени, красного костного мозга (Евстифеев и соавт, 2014; Муравьев и соавт., 2016).

Нормальный зрелый эритроцит (нормоцит) оксифилен, не содержит ядра и клеточных органелл (Боровская и соавт., 2010).

У взрослого животного диаметр эритроцитов крупного рогатого скота составляет от 4 до 8 мкм, а количество в мм³ крови составляет от 5 до 7 млн. Средний диаметр эритроцитов у крупного рогатого скота составляет 4,4-7,7 мкм. Толщина эритроцитов крупного рогатого скота составляет 2 мкм, объем 76-117 фл, площадь поверхности 140-150 мкм² (нормоциты) (Степовик и соавт., 1985; Медведев и соавт., 2015).

В состоянии физиологической нормы до 97% эритроцитов – двояковогнутые диски с утолщенным краем и впадиной по центру клетки (Медведев и соавт., 2015; Полозюк и соавт., 2019; Амиров и соавт., 2020). Примерно 3% эритроцитов при физиологической норме неправильной формы, в виде сфероцитов, эхиноцитов, стоматоцитов. Неправильная форма эритроцитов связана с нарушением обмена внутри клетки или с воздействиями на эритроциты (Липунова и соавт., 2004; Кленова и соавт., 2009; Мороз и соавт., 2012). Отрицательное осмотическое давление внутри клеток и работа ионных насосов обеспечивает дискоидную форму

эритроцитов (Боровская и соавт., 2010). Благодаря своей форме эритроциты обладают большой способностью к обратимой деформации при прохождении через узкие изогнутые капилляры (Сусликова и соавт., 2021).

Эритроциты заполнены гемоглобином, который обеспечивает транспорт газов и участвует в стабилизации структуры клеток. Гемоглобин связывается с белком полосы 3 и характеризуется низкой чувствительностью к H⁺ и 2,3 дифосфоглицерату (Байбеков и соавт., 2008).

Эритроцит окружен плазматической мембраной, толщина которой ~10 нм (Мороз и соавт., 2012; Чеснокова и соавт., 2015).

Мембрана составляет 1% от веса эритроцита, определяет гомеостаз и функциональное состояние эритроцита (Трошкина и соавт., 2007). В состав мембраны эритроцитов входят ~50% белков, ~45% липидов и ~8% углеводов (Байбеков и соавт., 2008) (рис. 1).

Углеводы химически связаны с белками или с липидами и отвечают за адгезивные свойства клеток, группы крови, а также являются специфическими рецепторами для связывания различных лигандов, вирусов, антител. (Боровская и соавт., 2010; Чеснокова и соавт., 2015).

Липиды эритроцитарных мембран представлены тремя классами: фосфолипиды, гликолипиды и холестерол (рис. 2).

Преобладают фосфолипиды:фосфотидилхолин, фосфотидилсерин, фосфотидилэтаноламин, сфингомиелин, которые во многом обусловливают свойства мембран (Кленова и соавт., 2009).

Липиды расположены в мембране асимметрично. Во внутреннем слое находятся фосфатидилсерин, фосфатидилэтаноламин, в наружном слое — фосфатидилхолин, сфингомиелин. Холестерин распределяется в обоих слоях мембраны. Асимметричное расположения липидов контролируется — флиппазой, флоппазой, скрамблазой. Данные ферменты отвечают за перемещение липидов между слоями. Флиппаза переносит липиды из наружного слоя во внутренний, флопаза — из внутреннего во внешний слой

против электрохимического градиента. Скрамблаза способна перемещать липиды в обоих направлениях, но в норме не активна. Активность ферментов модулируется ионами Ca²⁺ (Боровская и соавт., 2010; Naggata et al., 2016; Боронихина и соавт., 2021).

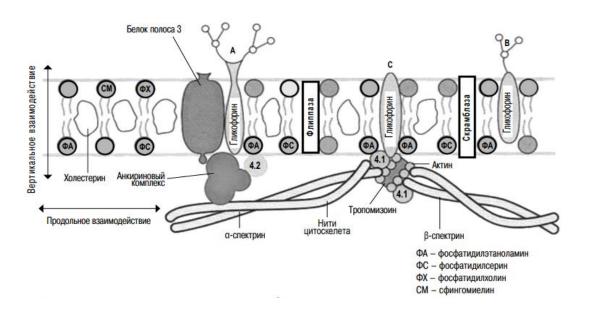


Рис. 1. Схема взаимосвязи основных элементов мембраны эритроцитов (Ващенко, Вильянинов, 2019).

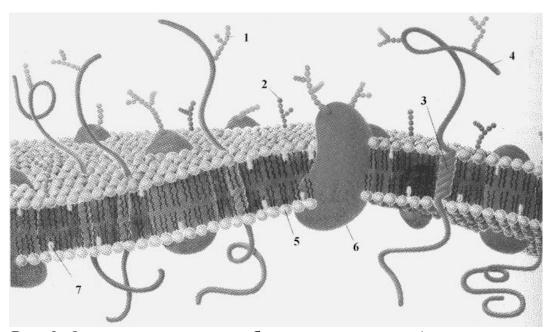


Рис. 2. Основные липиды мембраны эритроцитов: 1 — олигосахарид, 2 — гликолипид, 3 — гидрофобная альфа-спираль, 4,6 — интегральный белок, 5 — фосфолипиды, 7 — холестерин (Курьянова и соавт., 2019).

Наличие холестерола в бислое способствует вытягиванию насыщенных и ненасыщенных цепей молекул фосфолипидов, уменьшению текучести липидного бислоя, увеличению упругости и механической прочности бислоя (Боровская и соавт., 2010).

Белки мембраны эритроцитов многочисленны и разнообразны: известно около 20 основных - интегральных и периферических белков (Сюсин, 2015; Селиверстов, 2018; Боронихина и соавт., 2021) (рис. 3).

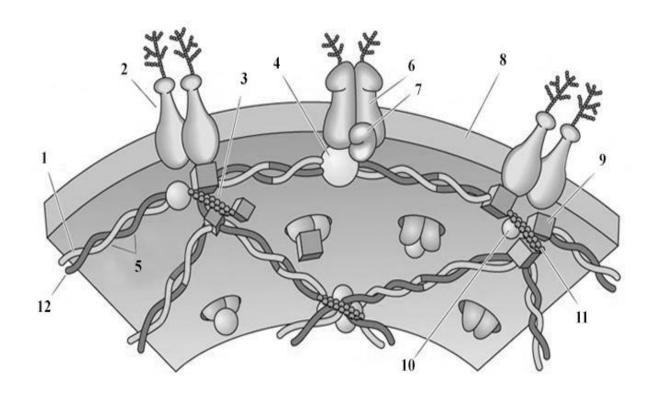


Рис. 3. Основные белки мембраны эритроцита: 1 – α-цепь спектрина, 2 – гликофорин С, 3, 11 – актин, 4 – анкирин, 5 – спектрин, 6 – белок полосы 3, 7 – белок полосы 4.2, 8 – плазмалемма, 9 – белок полосы 4.1, 10 – белок полосы 4.9, 12 – β-цепь спектрина (Курьянова и соавт., 2019).

Среди интегральных различают основные - белок полосы 3 и гликофорин (Кленова, и соавт., 2009). Белок полосы 3 — гликопротеид, который является основой для макромолекулярного комплекса интегральных и периферических белков мембраны эритроцитов. Образуя в мембране анионный канал, обеспечивает обмен углекислого газа и кислорода. N-конец

белка полосы 3 связан с ферментами гликолиза - глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа и альдолаза, а также с актином и дезоксигемоглобином (Сюсин, 2015).

Гликофорин присутствует только в эритроцитах в количестве ~2% от массы всех белков мембраны. С-конец гликофорина способствует фиксации цитоскелета. N-конец обеспечивает присоединение олигосахаров, формирующих гликокаликс эритроцита (Боронихина и соавт., 2021).

В состав белков полосы 4.5 входят интегральные белки — транспортеры глюкозы (Боровская и соавт., 2010).

Большая часть периферических белков находится в составе цитоскелета. Цитоскелет – сеть из белков – спектрина, актина и связанных с ним белков (белков полос 4.1, аддуцина, тропомиозина и др.). Цитоскелет локализован на внутренней поверхности мембраны, прикрепляется к липидному слою через гликофорин и белок полосы 3. Цитоскелет стабилизирует липидный бислой, обеспечивает прочность и гибкостью мембраны эритроцитов (Yamaguchi and Fukuzaki, 2019; Черныш, 2020).

Спектрин образует основу цитоскелета. Его основная роль заключается в сохранении двояковогнутой формы эритроцитов, способности эритроцитов изменять диаметр до 3–4 мкм при прохождении через капилляры и обеспечении устойчивости эритроцитов к механическим воздействиям в кровотоке (Байбеков и соавт., 2008).

Белок полосы 4.9 — стабилизирует взаимодействие спектрина с актином и влияет на полимеризацию последнего. Это фосфопротеин, присутствует в эритроцитах в количествах равных количеству спектрина (Боровская и соавт., 2010; Муравьев, 2013).

Аддуцин представляет собой сложный мультифункциональный протеин, который вместе с белком полосы 3 и белком транспортером глюкозы фиксирует цитоскелет к мембране эритроцита и также укрепляет связь спектрина и актина (Боронихина и соавт., 2021). Белок полосы 4.1 —

осуществляет связь между спектрином и актином, спектрином гликофорином С, который служит для прикрепления скелета к мембране. Белок полосы 4.1 способен снижать стабильность спектрин-актинового комплекса, повышать гибкость мембраны и деформируемость эритроцитов. полосы Активируется белок 4.1 В результате фосфорилирования протеинкиназой С. Регулятором фосфорилирования является уровень внутриклеточного Ca²⁺ в цитозоле (Ghosh et al., 2010; Муравлева и соавт., 2013; Aoki, 2017).

Белок анкирин участвует в укреплении нескольких интегральных белков на определенном месте, удерживая их как якорь (Трошкина и соавт., 2007). Тропомиозин эритроцитов участвует в образовании актинового протофиламента. (Боронихина и соавт., 2021).

Белок полосы 6 – глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа гликолитический фермент, который регулирует окисление гемоглобина.

Белок полосы 8 представлен пептидной частью фермента глутатион-Sтрансферазы. Взаимосвязь белка полосы 8 с мембраной является Ca^{2+} зависимой (Трошкина, 2007; Боровская и соавт., 2010).

Белок р55 обеспечивает прикрепление цитоскелета к мембране, взаимодействуя с белками 4.1 и с гликофорином С (Рыбина, 2001; Боронихина и соавт., 2021).

Структура цитоскелета регулируется концентрацией $AT\Phi$ и Ca^{2+} (Sridharan et al., 2012; Сергеева и соавт., 2015).

Накопление ионов Ca^{2+} в клетке способствует активации Ca^{2+} чувствительных ферментов, при этом происходит изменение проницаемости мембраны, что приводит к изменению формы эритроцитов (Nunomura et al., 2006; Кленова и соавт., 2009; Yamaguchi and Fukuzaki, 2019).

Накопление активных форм кислорода способствует уменьшению содержания макроэргов, увеличению содержания ионов ${\rm Ca}^{2+}$ и активации ${\rm Ca}^{2+}$ чувствительных ферментов. Активные формы кислорода активируют

фосфолипазы, способствуют перемещению фосфатидилсерина на наружную поверхность эритроцитарной мембраны, снижают деформируемость мембран, и запускают апоптоз эритроцитов (Кленова и соавт., 2009; Nunomura et al., 2006; Voccoli et al., 2014; Murate et al., 2016: Yamaguchi and Fukuzaki, 2019).

Транспорт веществ через мембрану осуществляется диффузией через липидный бислой, либо мембранными белками. Аквапорины, содержание которых велико в мембране эритроцита, принимают участие в транспорте незаряженных молекул: CO₂, O₂, H₂O₂, NH₃ (Боровская и соавт., 2010). Эритроцитарная мембрана мало проницаема для глюкозы, мочевины, катионов калия и натрия и абсолютно непроницаема для белков (Мороз и соавт., 2012).

Эритроцитарная мембрана содержит ионные каналы, которые поддерживают форму клеток и разность электрического потенциала. Основными насосами, контролирующими объем эритроцитов являются белки Na⁺/K⁺-ATФаза и Ca²⁺-ATФаза. От активности ионных каналов во многом зависит образование эхиноцитов и программируемая гибель клеток (Lang, 2006; Foller, 2008; Трубачева, 2011).

За транспорт ионов кальция отвечает Ca²⁺-ATФаза, работа фермента контролируется кальмодулином, фосфатидилинозитоламином, калпаином, протеинкиназами (Verhoeven et al., 2006). Накопление ионов кальция внутри клетки активирует калпаин-цистеиновую эндопептидазу и каспазу 3, что способствует переходу фосфатидилсерина на внешнюю поверхность мембраны эритроцита и уменьшению объема эритроцита (Костин и соавт., 2004; Arashiki et al., 2017).

Активность Na^+/K^+ -АТФазы зависит от содержания Ca^{2+} , Mg^{2+} , полимеризации актина. Ионы Mg^{2+} способствуют, ионы Ca^{2+} препятствуют полимеризации актина и тем самым активируют эффект Na^+/K^+ -АТФазы (Шалабодов и соавт., 2015). В эритроците кальций содержится в

ионизированной, неионизированной и связанной с белками форме (Friederichs, 1992).

В эритроцитах обнаружен феномен выхода ионов калия. Отвечает за данный эффект (Gárdos effect) канальный мембранный белок (Gárdos channel), который активируется ионами кальция. Одна из функций данного канала регуляция апоптоза эритроцитов (Lang et al., 2003).

Согласно F. Lang (2003)данным И соавт. неселективные каналы эритроцитарные ионные открываются при осмотическом сморщивании клеток. Активаторы каналов - окислительный стресс и гипоэнергетическое состояние (Lang et al., 2003; Antipenko et al., 2017).

из ключевых свойств эритроцитов - его способность деформации, обусловливающая их способность выполнять физиологические функции. Чтобы проходить через капилляры, эритроциты подвергаются различным деформациям, но при этом незначительно изменяют свои объем и площадь поверхности, что поддерживает процессы диффузии газов на высоком уровне. Снижение деформируемости эритроцитов происходит, в том числе, за счет увеличения внутриклеточной концентрации ионов кальция. 2008). Мембрана (Атауллаханов И соавт., обеспечивает сохранение целостности и дисковидной формы эритроцитов, а также возможность обратимой деформации. Структурно-функциональное взаимодействие мембраны ферментами гликолиза подтверждают активное участие мембраны клеток в энергетическом обмене. (Боронихина и соавт., 2021).

1.1.1. Особенности метаболизма эритроцитов

Зрелые эритроциты не способны метаболизировать пируват в цикле Кребса, синтезировать белки, нуклеиновые кислоты и липиды de novo (Липунова и соавт., 2004; Кленова и соавт., 2009; Чеснокова и соавт., 2014).

Глюкоза - основной источник энергии в эритроцитах, которая поступает в клетку облегченной диффузией. Глюкоза, метаболизируется по двум основным путям: гликолизу и пентозофосфатному пути (Чеснокова и соавт.,

2015). В ходе гликолиза синтезируется АТФ, основная роль которой обеспечение метаболизма и сохранение постоянства формы клетки; в ходе гликолиза образуются молочная кислота и 2,3 ДФГ. В пентозофосфатном пути синтезируется NADPH, необходимый для восстановления глутатиона (Abraham, 2001; Боровская, 2010; Chu, 2012). Снижение содержания АТФ, отрицательно отражается на целостности цитоскелета и его опорной функции, это и приводит к переходу дискоцитов в патологическую форму – эхиноциты, не способные к деформации. Подобная трансформация связана образованием перекрестных сшивок между спектрином и гемоглобином и соответственно к увеличению сопротивления капиллярному току крови и развитию гипоксии клетки (Бархина, 2006). В эритроцитах имеется фермент дифосфоглицератмутаза, который катализирует превращение 1.3дифосфоглицерата в 2,3 дифосфоглицерат. Эритроциты характеризуются высокой концентрацией 2,3 ДФГ (~4мМ) – другие клетки тканей организма содержат лишь следовые количества этого соединения. 2,3 ДФГ влияет на сродство гемоглобина к кислороду путем снижения внутриэритроцитарной рН, что с коммуляцией внутри клетки отрицательно заряженных анионов приводит к уменьшению сродства гемоглобина к кислороду (Бойтлер, 1981; Моисеева, 1985; Robak, 1994). Доказано, что увеличение концентрации 2,3 ДФГ улучшает деформацию клеток (Зинчук, 2001; Brazhe et al., 2009), в физиологической концентрации 2,3 ДФГ способен улавливать активные формы кислорода и предотвращать окисление железа гемоглобина (Зинчук, 2001; Brazhe, 2009; Tellone et al., 2019).

Высокое содержание кислорода в эритроцитах инициирует образование супероксидного анионрадикала ($O^{2^{-}}$), гидроксильного радикала (OH^{+}), пероксида водорода ($H_{2}O_{2}$). Активные формы кислорода образуются постоянно, их основным источником является неферментативное окисление Hb в MtHb (Open, 2015).

Особенностью метаболизма эритроцитов - высокая скорость

образования активных форм кислорода в связи с значительным содержанием кислорода. Токсическое действие АФК нейтрализуется системой антиоксидантной защиты (Джалабова и соавт., 1999).

Метгемоглобин восстанавливается метгемоглобинредуктазной системой, представленной цитохромом b5 и цитохром-b5-редуктазой при участии NADH, образующимся в гликолизе при участии глицеральдегидфосфатдегидрогеназы (Murakami, 2003; Yachie-Kinoshita et al., 2010).

Активные формы кислорода активируют перекисное окисление липидов (ПОЛ), окислительное повреждение белков эритроцитов и как следствие, способствуют развитию оксидативного (окислительного) стресса. Образующийся продукт перекисного окисления липидов — малоновый диальдегид (МДА) образует сшивки между мембранными фосфолипидами и белками. Результатом активации ПОЛ является нарушение функции мембраны, формы клетки и снижение продолжительности функционирования эритроцита. Наиболее чувствительны к ПОЛ и к образованию МДА - белки эритроцитов – ионные каналы, белок полосы 3, ферменты глицероальдегид-3-фосфатдегидрогеназа и фосфофруктокиназа. От окислительного стресса эритроциты защищены системой антиоксидантной защиты (Burak Çimen, 2008). Основные антиоксиданты эритроцитов - супероксиддисмутаза (СОД), каталаза, восстановленный глутатион (GSH). СОД и каталаза, ферменты, которые формируют начальную линию антиоксидантной защиты. Совместное действие СОД и каталазы эффективнее защищает клетки от активных форм кислорода, чем работа ферментов по отдельности (Benzie, 2000).

Антиоксидантные свойства восстановленный GSH, проявляемые как вне-, так и внутриклеточно, основаны на его взаимодействии с активными формами кислорода непосредственно либо в качестве субстрата ферментов антиокислительной системы (Кулинский и соавт., 2009). Высокое содержание GSH в эритроцитах (2–4 ммоль/л), обеспечивает не только высокий

антиоксидантный потенциал клеток, но и осуществляет регулирование кислородтранспортной функции, адгезивных свойств и деформационной способности эритроцитов (Dunning et al., 2013).

Снижение синтеза АТФ и активация свободнорадикальных процессов увеличивает количество видоизмененных форм эритроцитов за счет роста численности переходных форм красных кровяных телец, и необратимо измененных предгемолитических форм (Новицкий, 2004).

Эритроциты несут на наружной поверхности мембраны отрицательный электрический заряд, который создан карбоксильными группами сиаловых кислот. Отрицательный заряд мембраны предотвращает спонтанную агрегацию эритроцитов (Кабанов, 2006).

Состояние эритроцитов — чувствительный индикатор изменений нормального хода физиологических, биохимических и биофизических процессов в организме. Исследование особенностей структурнофункциональной организации эритроцитов при воздействии различных физико-химических факторов, особенно стресс-факторов и их коррекция, может иметь, помимо теоретического, диагностическое и прогностическое значение для оценки способности организма к адаптации (Нестеров и соавт., 2015).

1.1.2. Лазерная интерференционная микроскопия эритроцитов

Эритроциты точки зрения оптики являются фазовыми, слабоконтрастными объектами. Для исследования объектов фазовых используют метод лазерной интерференционной микроскопии (ЛИМ). Принцип метода лазерной интерференционной микроскопии основан на измерение локальных фаз света отраженного объектом. В лазерном интерференционном микроскопе лазерный луч делится на два. Один из лучей проходит через клетку и отражается от зеркальной подложки, на которой расположена клетка (отраженный луч). Другой луч – контрольный, через который объект не проходит. При наложении отраженного и контрольного лучей формируется интерференционная картина, то есть фазовое изображение объекта (Браже и др., 2009; Тычинский, 2001; Tychinsky et al., 2013). При построении фазового изображения определяется величина разности оптического пути обоих лучей, определяется оптическая разность хода (OPX), называемая фазовой высотой:

$$\Phi = \frac{\Theta \lambda}{2\pi 2}$$
, (1)

где q- разность фаз, рад; l-длина волны источника, нм

Значение OPX, в каждой точке исследуемого объекта связана с геометрическими размерами (толщиной), z

$$\Phi(x, y) = \begin{cases} z \max \\ \int \\ u \end{cases} (n(x, y, z) - n_1) dz$$
 (2)

где: n_1 -показатель преломления буферного раствора, величина которого постоянна, n(x,y,z) — величина показателя преломления в точке клетки с координатами x,y высотой z.

Фазовый портрет (ФП) клетки это распределение величин, в различных участках объекта. Значение ОРХ в каждой точке, i - сумма произведений толщины различных оптических сред, z, на показатель преломления соответствующей среды, n:

$$\Phi_i = (n^i_{\ n}z^i_{\ 1} + n^i_{\ 2}z^i_{\ 2} + ... + n^i_{\ n}z^i_{\ n}) - n_1z(3)$$

В случае с эритроцитами, основные различия в показателях преломления между цитоплазмой и мембраной областью, что позволяет упростить формулу 2 и рассчитать среднее значение OPX (Φ):

$$\Phi = (n_{\delta v\phi} - n_{\kappa nem\kappa u}) \cdot z_{cpeo}, \tag{4}$$

где $n_{\textit{бу}\phi}$ -показатель преломления буфера; $n_{\textit{клетки}}$ - показатель

преломления клетки (эритроцита); z_{cped} — средняя геометрическая высота (толщина) объекта.

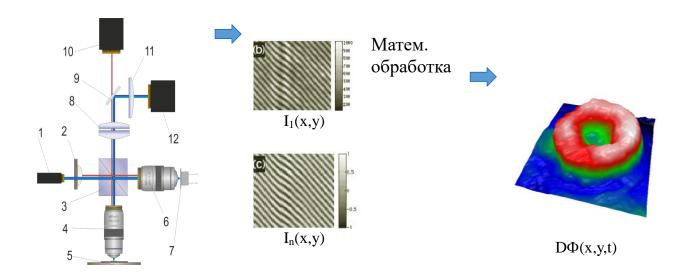


Рис. 4. Расчет фазового портрета и схема МИМ-340. Фазовый портрет клеток рассчитывается модернизированным трехшаговым методом: 1 — лазер; 2 — светодиод; 3 — светоделительная призма; 4 — микрообъектив предметного плеча; 5 — объект; 6 — микрообъектив опорного плеча; 7 — зеркало на модуляторе; 8, 11 — проекционная оптика; 9 — поворотное зеркало; 10 — камера навигационного канала; 12 — камера лазерного канала (Игнатьев, 2010).

В общем случае показатель преломления связан с концентрацией вещества и отражает изменение концентрации вещества в клетке.

Таким образом, ЛИМ позволяет исследовать не только интегральные параметры (объем, вес, параметры формы) клетки, но и пространственные распределения различных веществ — локальный по пространству параметр внутри клетки. Фазовые изображения несут новую информацию о состоянии клеток и могут быть использованы для оценки метаболизма клеток и диагностики патологий.

Принципиальная схема ЛИМ МИМ-340 представлена на рисунке 4. В МИМ разрешение порядка 0,1 нм (по вертикали) и 15–100 нм – в плоскости объекта, что значительно превышает классический предел разрешения для

световых микроскопов. Используется система компьютерного автоматизированного анализа цитологических изображений; алгоритмы распознавания, измерения и идентификации микрообъектов; методы статистической обработки данных.

МИМ позволяет исследовать немодифицированные биологические объекты в естественных условиях; позволяет получать количественные данные о морфологических и динамических характеристиках биологических объектов; исследование динамики локальных изменений оптической плотности в различных областях клетки позволяет выявить регулярные изменения оптической плотности клеточной структуры, определить частоту регулярных динамических процессов, как для всей клетки, так и отдельных ее участков (Тычинский, 2001). Реализована возможность сохранения клеточных паспортов в банке данных биомедицинских изображений с сравнением цитологических образцов последующим динамическим (Юсипович, 2011; Popescu, 2005; Sosnovtseva, 2005; Tychinsky, 2005).

1.2. ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ СТРЕСС КАК ФАКТОР СНИЖЕНИЯ ПРОДУКТИВНОСТИ ЖИВОТНЫХ

Молочное скотоводство одна из основных отраслей сельского хозяйства. Необходимым условием интенсивного ведения, которого является репродуктивного использование потенциала максимальное маточного По поголовья. данным ученых, мясо-молочная продуктивность сельскохозяйственных животных на 70-80% зависит от паратипических факторов, кормления, условий содержания и лишь на 20-30% – генетических. (Абитов и соавт., 2018). Современные технологии производства молока сопровождаются воздействием на организм стрессоров различной природы, что вызывает нарушение функционального гомеостаза животных, снижение их репродуктивной способности, уменьшение количества полученного

молока и ухудшение его качества (Абилов и соавт., 2015; Афанасьев, 2020; Ляпин и соавт., 2015; Фомичев и соавт., 2013).

Впервые термин «стресс» предложил канадский физиолог Ганс Селье (1936), который определил стресс как состояние, проявляющееся специфическим синдромом, включающим все неспецифически вызванные изменения в биологической системе. В настоящее время стресс — это общая неспецифическая стадийная системная реакция организма на повреждение или его угрозу (Гудошников, 2015; Парин, 2021; Рапиев и соавт., 2013; Селье, 1960; Шишкина и соавт., 2016).

Изменения, возникающие при стрессе, рассматриваются как общий адаптационный синдром, но при этом отмечается и «специфический синдром», который включает неспецифические изменения всего организма реализующиеся в стадии тревоги, резистентности и стадии истощения.

Стадия тревоги (мобилизации) – непродолжительная, наблюдаются инволюционные процессы в лимфатической системе, снижение тонуса температуры снижение тела, развитие воспалительных некротических процессов, исчезновение секреторных гранул надпочечников. секретируется стадии тревоги адреналин, обеспечивающий мобилизацию энергетических ресурсы организма. В организме усиливаются процессы катаболизма, снижается молочная продуктивность, развивается отрицательный азотистый баланс. Стадии тревоги длится от 6 до 48 ч. Если стрессор очень сильный, то животное может погибнуть в стадии тревоги в течение нескольких часов или дней.

Фаза резистентности, сменившая фазу тревоги, может длиться несколько недель. В этот период включаются механизмы адаптации. В результате нормализуется нервная и гуморальная реакция, выравниваются до нормы физиологические и биохимические показатели животных (Магер и соавт., 2005).

В этой стадии нормализуется метаболизм, уменьшаются

функциональные сдвиги которые наступили в начале действия стрессора. Разжижается кровь, нормализуется лейкограмма, активируется анаболизм, восстанавливается продуктивность животных. Стадия длится от нескольких часов до нескольких дней или недель. Если стресс фактор прекратил свое влияние на организм и организм справился с неблагоприятными последствиями, то развитие стресса заканчивается стадией резистентности.

Если действие стрессоров сильное, продолжительное, то развиваются заболевания, названные Г. Селье болезнями адаптации. Причины - перевод животноводства на промышленные технологии. В стадию истощения, в случае длительного, интенсивного воздействия стресс фактора адаптационные ресурсы организма коров иссякают, снижаются общая и специфичная резистентность. Истощаются запасы гликогена, преобладают катаболические процессы над анаболическими. Все это ведет к снижению продуктивности, а в случае непрекращающегося воздействия стресс-фактора, организм погибает (Фурдуй, 1986). В животноводстве чаще стрессовое состояние проходит в своем развитии только две стадии: тревоги и резистентности.

Действие стресс-факторов приводить дефициту может К энергообеспечения и мобилизации энергетических ресурсов. Нехватка энергетического материала в организме животных может привести организм к третьей стадии стресса – стадии истощения. На этой стадии в организме могут развиваться дистрофические процессы в лимфатической системе, нарушение метаболизма, снижает естественную ЧТО резистентности, способствовать возникновению заболеваний различных систем организма неинфекционной этиологии (Willner, 2017; Yuen, et al., 2017).

Точно выделить границы стадий стресса удается далеко не всегда. На сельскохозяйственных животных динамика стадийности стресса мало изучена. В литературе приведены лишь данные, характеризующие изменения различных систем организма под влиянием стресс-факторов.

Стресс-реализующими системами являются симпато-адреналовая и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система. Первичным звеном в развивающейся стрессорной реакции является озбуждение симпатоадреналовой системы, сопровождаемое мобилизацией катехоламинов, что обеспечивает быстрый физиологический ответ на действие стрессора. Активация симпато-адреналовой системы приводит к повышенному выбросу адреналина, который, накапливаясь в крови через гемато-энцефалический барьер поступает в гипоталамус. Поступление адреналина в гипоталамус стимулирует образование кортикотропин-рилизинг-фактора, следствием чего является образование в гипофизе адренокортикотропного гормона и последующий выброс кортикостероидов в кровь (Патюков и соавт., 2015). Функция глюкокортикоидов, как и катехоламинов, – мобилизация организма. подавляют Глюкокортикоиды активируют глюконеогенез, секрецию модулируют стимулирующее действие усиливают липолиз, катехоламинов, оказывают противовоспалительный эффект (Хаитов и соавт., 2001).

В современном животноводстве самым распространенным является технологический стресс. Технологический стресс – сумма действия стрессоров, сопровождающих промышленную технологию содержания крупного рогатого скота – дефицит инсоляции, гиподинамия, скученность, частые перегруппировки) (Преображенский и соавт., 2001; Кавтарашвилии соавт., 2010).

Основные элементы технологии, способные стать причиной технологических стрессов:

- способы содержания животных. Данный тип стресса приводит к развитию перевозбужденного состояния, травмам и каннибализму у животных;
- отъемный стресс. Множественный стресс-фактор, включающий отлучение от матери, формирование новых групп, перевод в другое

помещение и т.д.;

- размеры групп и площадь размещения животных. При содержании животных крупными группами агрессивность возрастает, нарушается организация стада. Подчиненные животные не удовлетворяют свои потребности, находятся в состоянии постоянной тревоги и возбуждения;
- Для сельскохозяйственных формирование групп. характерна высокая степень стадной организованности. Инстинкт стадности способствует сближению Поэтому животных. получение хороших производственных результатов зависит максимального постоянства OT состава групп.

К возникновению технологического стресса предрасположен молодой, племенной и высокопродуктивный скот. Основные стрессоры - жаркая, сухая или холодная, сырая погода, длительнное нарушение условий содержания, а также воздействие двух или нескольких стрессоров (Данилкина, 2016; Монастырев и соавт., 2017).

Б.П. Моховым (2003), В.Л. Малофеевым (2006), Н.И. Ярован, (2007), подтверждено, что привязное содержание крупного рогатого скота является наиболее стрессогенным (Мохов, 2003; Малофеев, 2006; Ярован, 2008).

Доказано, что голштинизированные коров черно-пестрой породы характеризуются низкими возможностями адаптации к промышленному содержанию. Голштинизированные породы коров характеризуются метаболизмом и низкой устойчивостью к интенсивным изменениям окружающей среды, патологическим реагированием даже на незначительные неблагоприятные факторы (Гудыменко, 2015; Самбуров и соавт., 2018). Стрессовые факторы приводят к нарушению метаболизма, к патологии, нарушению полового цикла, у стельных коров отмечаются аборты, к снижению удоев, жирности, белковости молока, уменьшению хозяйственного использования животных, как следствие, снижается рентабельность отрасли. Учеными С.А. Ламоновым, С.Ф. Погодаевым (20042005), С.Л. Тихоновым (2006), В.Л. Малофеевым (2006), Д.В. Литовченко (2016), доказано снижение продуктивности при технологическом стрессе в 2 раза.

Одним показателей развития стресса ИЗ является активация свободнорадикального окисления. Свободные радикалы приводят дистрофическим изменениям на всех уровнях – от молекулярного до организменного (Пасько, 2009; Латюшин, 2010; Любина, 2010; Pamplona, et al., 2011; Киреев и соавт., 2017; Тимина, 2017; Фурман и соавт., 2019). Окислительный стресс сопровождается угнетением клеточного гуморального иммунитета у крупного рогатого скота (Ибишов и соавт., 2022).

Длительность адаптации крупного рогатого скота стрессам продолжается от 2 до 8 месяцев. Например, к смене климата коровы адаптируются за 3 года; для адаптации к новому типу содержания или к перегруппировке требуется до трех недель (Мохов, 2003; Исмагилова, 2006; Ермакова, 2014). Наиболее распространенными способами предотвращения стресса использование антистрессоров, транквилизаторов, является минерально-витаминных комплексов, солевых композиций, применение минусов непродолжительность действия которых имеет ряд накапливаемость в организме животных (Сизов, 2019; Канкалова, 2020).

образом, предупреждение или снижение отрицательных последствий стрессов – важнейший фактор сохранения здоровья, повышения продуктивности животных и уменьшения расходов кормов на получение продукции (Абилов, 2015). Поиск новых, более действенных, доступных и дешевых препаратов с высокой технологичностью их применения и не аккумулирующихся в организме представляет собой актуальную проблему, способствовать решение которой будет наилучшему использованию биологического потенциала крупного рогатого скота (Дедкова и соавт., 2012; Ляпина и соавт., 2013; Поберухин, 2014).

1.3. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О МЕХАНИЗМАХ ВЛИЯНИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ТКАНИ

Актуальной задачей современного животноводства является поиск и внедрение надежных, экологически и биотехнологически безопасных методов, повышающих жизнеспособность, резистентность и адаптационные способности организма животных. (Чечушкова и соавт., 2002; Будаговский и соавт., 2008).

Перспективным способом увеличения производства продукции сельскохозяйственных животных, при оптимальных условиях кормления и содержания, является применение в практике сельского хозяйства низкоинтенсивного лазерного излучения (Платохин и соавт., 1974; Васильева, 2001; Казеев, 2003; Гудков, 2005; Оказов, 2008, 2009).

Низкоинтенсивное лазерное излучение характеризуется высокой когерентностью, монохроматичностью, колоссальной энергетической плотностью, направленностью, возможностью фокусировки излучения, что обеспечивает высокий биологический эффект, который реализуется клеточнотканевыми, нейрорефлекторными и нейрогуморальными реакциями (Дягтерев, 2009; Москвин, 2016; Ваит, 1986).

Терапевтический эффект НИЛИ зависит от длины волны, мощности излучателя, времени экспозиции, кратности воздействия, поглощенной дозой облучения (Картелишева, 2012).

Среди источников НИЛИ в сельском хозяйстве наибольшее распространение получили гелий-неоновые лазеры с длиной волны 650 нм и полупроводниковые лазеры с длиной волны 830 нм. В отличие от гелий-неонового, излучение полупроводникового лазера обладает способностью значительно глубже проникать в ткани (Панько и соавт., 1987; Карамалак и соавт., 2007).

В животноводстве используют три способа воздействия

низкоинтенсивного лазерного излучения:

- контактный способ — излучатель соприкасается с поверхностью тела или небольшим усилием прижат к кожным покровам (для более глубокого проникновения луча и меньшего его отражения и рассеивания). При данном способе наблюдается максимальная энергетическая интенсивность на небольших площадях.

Стабильный способ — излучатель устанавливают неподвижно на зону воздействия на время не менее одной минуты.

Лабильный способ — излучатель перемещают по зоне воздействия. Различают сканирующий способ - перемещение производится непрерывно в течение заданного времени, и квазисканирующий (более эффективный, чем сканирующий) - когда перемещение производят «скачками», задерживаясь на каждом поле обработки до 15-30 сек. Данный способ воздействия применяют для обеспечения минимальной интенсивности.

При этом единого способа воздействия НИЛИ в настоящее время не существует, что затрудняет его использование в животноводстве и ветеринарии.

Действие НИЛИ на организм прослеживается на разных уровнях организации: молекулярном, клеточном, тканевом, органном и на уровне регуляторных систем. Однако механизмы стимулирующего действия НИЛИ до конца не изучены. На настоящий момент нет научного обоснования выбора доз и длины волны НИЛИ, так как до сих пор не установлена природа эндогенного хромофора НИЛИ.

В зависимости от того, является ли первичный процесс резонансным или нерезонансным, пути воздействия НИЛИ подразделяются на два вида: специфический путь, который опосредуется резонансным взаимодействием НИЛИ с эндогенными фотосенсибилизаторами, такими как гемоглобин, флавин и никотинамидадениндинуклеотидфосфат оксидазы, которые состоят из связанного с мембраной цитохрома b558 (Lubart et al., 2005),

неспецифический который опосредуется нерезонансным путь, взаимодействием НИЛИ с белками в мембране клеток или органелл (Liu et al., 2003). Все мембранные молекулы, опосредующие неспецифический путь, взаимодействуют друг с другом, образуя когерентные взаимодействия, молекулы которых, находятся в сверхизлучающих состояниях и далеки от своего гомеостатического состояния (Liu et al., 2009). На молекулярном уровне передачи сигналов идут с конечными скоростями. Lestas et al. (2010) обнаружили, что кажущиеся умеренными ограничения НИЛИ на эти скорости накладывают серьезные ограничения на способность подавлять молекулярные флуктуации. Нерезонансное взаимодействие НИЛИ настолько слабо, что его биологический ответ не может наблюдаться в случайных состояниях, но его можно усилить в когерентных состояниях, что наблюдается при нарушении гомеостаза. Каждая дисфункциональная функция в клетке имеет свои молекулы в когерентных состояниях, так что действие НИЛИ, опосредованное неспецифическим путем, будет носить гомеостатический характер.

В частности, показаны различные точки приложения действия НИЛИ: активация антиоксидантов (Девятков, 1987) взаимодействие с ферментами митохондрий (Каги et al., 2005). По мнению С.Д. Захаровой и соавт., (1990), R. Bajgar (2014) эффект НИЛИ основывается на производстве синглетного кислорода, обеспечивающего регуляцию метаболизма клетки.

Кроме того, было показано, что НИЛИ приводит не только к увеличению активных форм кислорода, но и АТФ и цАМФ через поглощение НИЛИ компонентами митохондриальной дыхательной цепи (Данилов и соавт., 1990).

Ю.А. Владимиров предложил три гипотезы о механизме воздействия низкоинтенсивного лазерного излучения в видимой области света (Владимиров и соавт., 1994). Их суть заключается в следующем: 1). фотодинамическое действие на мембраны, сопровождаемое увеличением

внутриклеточного кальция и стимуляцией клеток; 2). фотореактивация супероксиддисмутазы; 3). фотолиз металлокомплексов NO с высвобождением этого вазодилататора (Владимиров, 1994).

Согласно исследованиям С.В. Москвина (2012), акцептором лазерного излучения является внутриклеточный компонент, имеющий полосу характерную для данной длины волны. Таким образом поглощения, пусковым моментом биологического действия НИЛИ является локальный нагрев, в результате изменяются макромолекулы, в первую очередь белковые, затем высвобождаются из депо ионы кальция, что запускает вторичные Ca²⁺зависимые процессы: усиление синтеза ДНК, РНК, АТФ, высвобождение NO, изменение метаболизма в клетке (рис. 5) (Москвин, 2012).



Рис. 5. Последовательность развития биологических эффектов при воздействии НИЛИ (Москвин, 2012).

Эффекты низкоинтенсивного лазерного излучения могут реализовываться через лазерно-индуцированную димеризацию лигандов рецепторов, что так же приводит к увеличению концентрации

внутриклеточного кальция и активации кальциевых каналов (Брилль, 2005; Breitbart, 1996; Duan, 2001).

Помимо теорий, предполагающих наличие специфических акцепторов излучения, разработано ряд гипотез неспецифического действия НИЛИ. Ряд авторов полагают мембранотропное действие лазерного света на липидный бислой и белковые глобулы (Спасов и соавт., 1998; Козель и соавт., 2000). При способствует конформации белков ЭТОМ изменение изменению метаболических и рецепторных процессы (Мажуль и соавт., 2000). Возникающие структурные и функциональные перестройки мембран формируют неспецифические адаптационные процессы, стимулируют синтетические и оэнергетические процессы на уровне всего организма (Чудновский и соавт., 2002).

Несмотря на значительные успехи в исследовании действия электромагнитных волн, отдать предпочтение какой-либо теории механизмов действия НИЛИ, нельзя, так как ни одна из них не объясняет полностью всю совокупность обнаруженных эффектов. В связи с этим дальнейший поиск акцепторов НИЛИ, выяснение роли компонентов клетки и сигнальных путей в реализации действия НИЛИ, является важнейшим направлением биологии.

Доказано, что низкоинтенсивное лазерное излучение при правильном применении не несет опасности для организма животного. Изменения в организме при действии НИЛИ носят адаптивный характер (Павлов, 2017). Доказано, что НИЛИ стимулирует образование опиоидных пептидов (Брук, 1999; 2005; Косорыгина, 2015).

Н.Д. Полушиной и соавт. (1997), F. Bahr (2006) показано, что выброс нейропептидов в кровь отмечен через 7-10 минут после воздействия. Л.А. Титова и соавт. (2011) доказали влияние лазерного излучения на гипоталамогипопофизарно-надпочечниковую систему.

НИЛИ восстанавливает ослабленные функции, нормализует гематологические, биохимические показатели, стабилизирует состав крови,

активирует фагоцитоз, а также вызывает широкий спектр фотофизических и фотохимических изменений (Кару, 1986; Короткевич, 2000; Котомина и соавт., 2001; Веремей и соавт., 2002; Котомина, 2005; Москвин и соавт., 2006; Пайтерова и соавт., 2009; Сержантова и соавт., 2011, Петухов и соавт., 2013).

Использование низкоинтенсивного лазерного излучения повышает скорость роста и развития молодняка крупного рогатого скота, способствует увеличение количества простейших в рубце опытных животных (Тезиев и соавт., 2008; Трофимов, 2010).

Н.К. Комарова (2015) проводила лазерное воздействие на область вымени. Продуктивность коров после воздействия НИЛИ в течение 7 суток увеличивалась на 9%. Помимо этого, НИЛИ активизирует деятельность молочной железы.

По мнению А.Ф. Трофимова (2010) НИЛИ оказывает на организм многообразное воздействие что создает реальную предпосылку для более широкого использования его в ветеринарной и зоотехнической практике.

Таким образом, данные о механизмах воздействия НИЛИ, накопленный опыт применения НИЛИ при воспалении различного генеза, доказанная способность НИЛИ оказывать влияние на снижение воспаления, индукцию регенерации, восстановление физиологических свойств различных органов и тканей свидетельствуют о возможности применения НИЛИ при технологическом стрессе у крупного рогатого скота.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В соответствии с целью и задачами исследований работа проведена в два этапа. Общая схема проведенных исследований приведена на рисунке 6.



Рис. 6. Общая схема проведенных исследований.

Исследование vivo физиологически проведено на здоровых высокопродуктивных коровах голштинизированной черно-пестрой породы, содержащихся в производственных условиях животноводческих комплексов Нижегородской области. Содержание животных – беспривязное в типовых коровниках в течение всего года. Исследования проводились в зимний период наиболее стрессогенный, преобладанием года. что обусловлено окислительных процессов со снижением активности антиоксидантной системы (Плященко, 1987; Михайлова, 2007; Ермакова, 2012).

Животные получали одинаковый пищевой рацион, соответствующий нормам кормления. Нормы кормления и содержания животных соответствовали утвержденным рекомендациям (Калашников и соавт., 2003).

Исследование проводили в соответствии с требованиями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в научных целях (ETS №123, Страсбург, 1986) и Приказа МЗ РФ № 708 H от 28 августа 2010 г.

В исследовании было задействовано 48 голов крупного рогатого скота, по 12 голов в каждой группе. Было сформировано четыре группы коров: І группа — интактная; ІІ группа — животные, после технологического стресса; животных ІІІ и ІV групп подвергали в течение 7 суток технологическому стрессу с последующим 7-дневным воздействием НИЛИ в области уха 5 и 15 минут соответственно.

В качестве технологического стресса рассматривали совокупность воздействий: перегруппировку животных и смену обслуживающего персонала, действующих ежедневно в течение 7 суток.

В качестве источника НИЛИ использовали автономный лазерный душ «МарсИК» (НПО "Петролазер", Санкт-Петербург) с длиной волны 830 нм, мощностью 90 мВт, поток падающей энергии составил 5 мВт/см². Выбор длины волны НИЛИ обусловлен следующим: показано, что наиболее выраженным фотостимулирующим эффектом обладают лазеры с красным и ближнем инфракрасном диапазоном (от 630 до 850 нм) (Mochizuki-Oda, 2002), а оптимальным проникающим действием в ткани обладают лазеры с длиной волны 810 нм (Cotler, 2015).

Взятие крови из яремной вены коров проводили в утреннее время до раздачи кормов. Для исследований использовали стабилизированную ЭДТА нативную кровь, плазму и сыворотку крови. Исследовали морфометаболические характеристики эритроцитов, гематологические и биохимические показатели крови через час, сутки, семь суток после технологического стресса; молочную продуктивность коров до и через 30 суток после технологического стресса.

Оценку функционального состояния организма и обмена веществ у

животных проводили на основании данных биохимических исследований крови, отражающих функциональное состояние организма.

Для выявления роли отдельных структурных компонентов эритроцитов в реализации эффектов НИЛИ было проведено исследования *in vitro*. Объектом исследования являлись предварительно отмытые эритроциты периферической крови крупного рогатого скота без стрессового воздействия и животных, перенесших стресс.

Облучение клеток крови проводили в чашках Петри диаметром 5 см, на расстоянии 1 см от поверхности клеточных мембран. Эритроциты подвергали воздействию НИЛИ в течение 5 и 15 минут. Контролем служили клетки, не подвергавшиеся воздействию.

Энергетическую плотность (ЭП) действия НИЛИ рассчитывали по формуле (Москвин, 2016): $D=P(B\tau) \cdot t$ облучения (c) / $S(cm^2)$, где P - мощность (Вт) прибора; t - время экспозиции(c); S - площадь облучаемой поверхности (cm^2).

ЭП для коров при 5 мин составила 1,35 Дж/см 2 и 15 мин – 4,05 Дж/см 2 ЭП для клеток при 5 мин – 1.38 Дж/см 2 и при 15 мин – 4.12 Дж/см 2

Времени экспозиции 5 и 15 мин объясняется следующими факторами. Имеющиеся рекомендации по биологической безопасности лазерного излучения регламентируют экспозицию 5 мин. При этом в ряде случаев отмечается низкая эффективность действия НИЛИ на животных (Комарова и соавт., 2015), что диктует анализ эффектов НИЛИ при увеличении времени воздействия. При этом температура образцов при их облучении 5 мин была постоянной с точностью 0,2°С за время сеанса облучения. При увеличении времени воздействия более 15 мин на образцы крови температура повышалась, что послужило предельным временем воздействия для исследования.

Выявление роли симпатоадреналовой и гипофизарно-надпочечниковой систем на изменение морфо-функциональных свойств эритроцитов при

стрессе и действии НИЛИ проведено на эритроцитах, предварительно инкубированных с адреналином $(1\times10^{-9} \Gamma/\text{мл})$ и кортизолом $(5\times10^{-7} \Gamma/\text{мл})$.

Для исследования механизмов морфо-метаболической модификации действии стресса и НИЛИ были использованы эритроцитов при глутарфиксированные эритроциты (по методике Walter, Krob, 1989), что позволило оценить роль белок-липидной структуры мембраны эритроцитов в реализации эффектов стресса и НИЛИ; инкубация эритроцитов с блокатором α -адренорецепторов – фентоламином (1×10⁻⁹г/мл); β-адренорецепторов – $(1\times10^{-9} \Gamma/M\pi)$ пропранололом позволила определить значение адренорецепторов в определении пути сигнальной трансдукции при действии нили.

Время воздействия препаратов составило 30 мин, за исключением действия адреналина, действие которого составило 15 мин. В каждой серии было по 20 проб.

Определение электрофоретической подвижности эритроцитов (A.V. Deryugina et al., 2017)

ЭФПЭ измеряли микроскопическим методов с учетом времени движения эритроцитов в электрическом поле в трис-HCl буфера (рH=7.4) Использовали 0.02% суспензия отмытых эритроцитов. Регистрировали время движения 10 клеток на расстояние 100 мкм при силе тока 8 мА. ЭФПЭ расчитывали по формуле:

U=S/tH,

где S — расстояние перемещения эритроцитов (мкм) за t — время перемещения (c);

Н – величина градиента потенциала в υ/см,

U – электрофоретическая подвижность эритроцитов в μ • сек-1 • υ -1 • см (мкм см B-1 c-1).

H=I/qx,

где I – сила тока в A,

q – поперечное сечение камеры в см²,

x — удельная электропроводность среды в Ω -1.

Определение концентрации малонового диальдегида в эритроцитах (В.М. Лившиц, 2007)

Метод определения содержания малонового диальдегида основан на образовании цветного окрашивания триметинового комплекса при реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) последующей регистрацией cспектрофотометре светофильтре (532)при зеленом нм). Реакция осуществляется с использованием 0,1 мл взвеси отмытых эритроцитов + 1,9 мл воды + 2 мл 30% трихлоруксусной кислоты (TXY) + 2 мл 0.75%тиобарбитуровой кислоты (ТБК) и кипячением в течение 15 минут.

Расчет концентрации МДА (С) проводли по формуле:

 $C = \cancel{\Pi} \cdot 50/1,56$ (нМоль/мл эритроцитов), где $\cancel{\Pi}$ – оптическая плотность, 50 – разведение, 1,56 – молярный коэффициент экстинкции МДА.

Определение активности Na^+/K^+ $AT\Phi$ азы эритроцитов (А.М. Казеннов и соавт., 1984)

Активность Na⁺/K⁺-АТФазы определяли в гемолизате предварительно отмытых эритроцитов в инкубационной среде: 1,2 мл трис — HCl буфера (pH=7.4), 0,2 мл NaCl, 0,2 мл KCl, 0,2мл MgCl₂, и 0,2мл АТФ с предварительной инкубацией 45 мин на водяной бане при 37⁰C. Затем готовили ТХУ-фильтрат и анализировали количество неорганического фосфата в пробе, используя 0,25 мл 0,9% молибденовокислого аммония, 0,25 мл 4,6% аскорбиновой кислоты, 0,5 мл стабилизирующего реактива (9% мышьяковистый натрий, 9% уксусная кислота, 9% цитрата натрия в равных объемах). Регистрацию проводили на фотометре фотоэлектрическом КФК-3 при длине волны 660 нм.

Определение содержания 2,3 ДФГ и АТФ в эритроцитах (И.Л. Виноградова и соавт., 1980; G.A. Boyarinov et al., 2017) Определение концентрации АТФ и 2,3 ДФГ проводили в ТХУ

фильтрате гемолизированных эритроцитов неэнзиматическим методом по содержанию неорганического фосфата.

При измерении концентрации АТФ проводили кипячение ТХУ фильтрата с 2H HCl (7 минут) с последующим добавлением 1 мл 2H NaOH и определением неорганического фосфата.

При измерении концентрации 2,3-ДФГ для удаления нуклеотидов (АТФ, АДФ, АМФ) из пробы проводили центрифугирование ТХУ фильтрата добавлении 100 МΓ активированного угля И последующим 0,5 фильтрата фильтрованием. Далее В определяли фосфат ΜЛ неорганический. Пробу со ставшимся 0,5 мл фильтратом подвергали озолению и определяли фосфат неорганический. По разнице конценраций, расчитывали содержание 2,3 – ДФГ в пробе. Неорганический фосфат анализировали аналогично его измерению в методе измерения активности Na⁺/K⁺ АТФазы спектрофотометрически при длине волны 660 нм на фотометре фотоэлектрическом КФК-3.

Для определения активности СОД, каталазы и ГST готовили гемолизат эритроцитов в 0,1% растворе ЭДТА в соотношении 1:10.

Определение активности супероксиддисмутазы (СОД) (Т.В. Сирота, 2016)

Активность СОД определяли по ингибированию образования продукта аутокисления адреналина.

В спектрофотометрическую кювету помещали 200 мкл 0,2М бикарбонатного буфера (рН 10,65), 10 мкл 0,1% раствора адреналина. После добавления 1 мкл гемолизата эритроцитов (1:10), содержимое кюветы перемешивали и измеряли величину оптической плотности при 347 нм в течение 3 мин. В контрольную пробу фермент не добавляли.

Процент ингибирования вычисляли по формуле: % ингибирования = [1- (Do/Dk)] \square 100 %, где:

Do – оптическая плотность в присутствии гемолизата;

Ок-оптическая плотность в отсутствии гемолизата;

Активность СОД рассчитывают в условных единицах активности.

За 1 усл. ед. акт. принимали 50 % ингибирование реакции.

Активность супероксиддисмутазы в пересчете на содержание гемоглобина рассчитывается по формуле: $A = (M \square Ect) / (0,1236 \square Erem)$, где:

А – активность супероксиддисмутазы, ед. акт./мг гемоглобина;

М – количество единиц фермента в пробе;

Ест-оптическая плотность стандартного раствора, содержащего 59,75 мг гемоглобинцианида в 100 мл;

Егем—оптическая плотность опытной пробы гемолизата при определении гемоглобина;

0,1236-коэффициент пересчета.

Определение активности каталазы в эритроцитах

(М.А. Королюк и соавт., 1988)

Активность каталазы измеряли в гемолизате эритроцитов инкубируя его 2 мин при 25°C с 2 мл 0,034% H_2O_2 . Добавление 4% раствора молибдата аммония останавливало реакцию. В контроле вместо гемолизата использовали дисстиллированную воду. Измерение проводили при длине волны 410 нм спектрофотометрически на спектрофотометре. Активность фермента (A, мкмоль H2O2/ мг Hb/ мин) рассчитывали по формуле:

$$C = \frac{(E \kappa o H - E o \pi) * V \pi p o \delta \omega}{\epsilon o * l * t * V b i o s * C h b}$$

где M- молекулярная масса перекиси водорода;

 $\Delta E = E$ к-Eo, разница между оптической плотностью опытной пробы (Eo) и оптическая плотность контрольной пробы (Eк);

 К – расчетный коэффициент единиц оптической плотности в мг перекиси водорода (рассчитывают по калибровочному графику);

t – время реакции, мин;

С – концентрация гемоглобина в пробе, мг.

Определение концентрации восстановленного глутатиона (G.L. Ellman, 1959)

Определение концентрации восстановленного глутатиона проводили в плазме крови и в гемолизате эритроцитов с использованием 5,5'-ди-тио-бис(-2-нитробензойной) кислоты (ДТНБ) и 20 % раствора сульфосалициловой кислоты. К супернатанту, полученному путем центрифугирования при 3000 об./мин в течение 10 мин добавляли 0.1 М Трис-НС1 буфера + 0,01 % ЭДТА (рН 8,5) + раствор ДТНБ в 1 мл абсолютного метанола. Пробы фотометрировали при длине волны 412 нм на спектрофотометре Расчитывали концентрацию восстановленного глутатиона по калибровочной кривой и выражали в мкмоль/г ткани или мкмоль/г гемоглобина.

Изучение фазового портрета эритроцитов методом лазерной интерференционной микроскопии

Комплексную фазометрию эритроцитов изучали методом лазерной интерференционной микроскопии на микроскопе МИМ-340 (Уральский оптико-механический завод им. Э.С. Яламова, Россия).

В микроскопе МИМ-340 использовался лазер с длиной волны 650 нм, мощностью 5 мВ (мощность излучения на объекте была менее 2 мВт), объективом с увеличением 30 (NA=0,65), разрешение по вертикали – 0,1 нм. Рабочее поле микроскопа в пределах 5–50 мкм. Изображения регистрировались на ССD видеокамеру VS-415U (НПК «Видеоскан», Россия) с разрешением 782х582 пикселей и обработкой результатов в программе МІМ Visualizer 1.0 (МІМ Software Inc., США).

Исследование биохимических показателей крови

В сыворотке крови животных регистрировали концентрацию глюкозы, общего белка, креатинина, мочевины, каталитическую активност аминотрансфераз на биохимическом анализаторе «Clima MC-15» с использованием стандартного набора реактивов фирмы «BioSystems» и

«Randox».

Содержание кортизола в сыворотке крови проводили иммунологическим методом на автоматическом ИФА анализаторе (Эволис Твин Плюс, Россия).

Гематологические показатели исследовали на гематологическом анализаторе Гемалайт 1270 (Dixion, Россия).

Исследование молочной продуктивности

Молочную продуктивность исследовали у коров 2-ой лактации, методом контрольных доек, а также по данным зоотехнического журнала. Определяли массовую долю белка, жира, лактозы в молоке на ультразвуковом анализаторе «Лактан 1-4».

Статистические методы оценки результатов экспериментов

Полученные экспериментальные данные рассчитывали, как среднее значение (Mean) с ошибкой среднего (SEM). Сравнительный анализ данных проводили с помощью пакетов прикладных программ Statistica 6.0. и Microsoft Excel. Для проверки гипотезы о виде распределения применялся метод Шапиро-Уилка. Изучение статистических закономерностей осуществлялось с применением параметрического (критерий Стьюдента с метода статистики. Корреляционный поправкой Бонферрони) проводили с использованием коэффициента корреляции Спирмена. величину уровня статистической значимости различий принимали р≤0.05.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Действие технологического стресса и НИЛИ на морфофункциональное состояние эритроцитов коров в условиях in vivo

Морфологический состав эритроцитов крови у исследуемых групп животных представлен в таблице 1. У животных без технологического стресса в течение всего эксперимента основную часть эритроцитов составляли дискоциты. Морфологическое исследование эритроцитов крови коров после действия технологического стресса показало, что уже к первому часу воздействия отмечалось снижение числа дискоцитов и возрастание патологических форм эритроцитов.

При воздействии НИЛИ в области уха на стрессированных животных в 5 течение И 15 МИНУТ замедлялась трансформация дискоцитов патологические формы эритроцитов. Превалирование числа дискоцитов над эхиноцитами, стоматоцитами и дегенеративно измененными формами эритроцитов наблюдалось уже через час после воздействия НИЛИ. Через 7 суток количество дискоцитов при действии НИЛИ восстанавливалось до интактной группы, тогда как без воздействия НИЛИ у стрессированных животных данный показатель оставался пониженным. Для остальных морфологических форм эритроцитов восстановление до значений интактной группы так же регистрировалось при действии НИЛИ через 7 суток после технологического стресса и сохранялось измененным без воздействия НИЛИ у стрессированных животных. Увеличение числа дискоцитов и снижение числа эхиноцитов, стоматоцитов, дегенеративно измененных форм эритроцитов было наиболее выражено при действии лазерным излучением в течение 15 минут.

Таблица 1. Морфологический состав эритроцитов крови коров на фоне стресса и воздействия НИЛИ в экспериментах in vivo, %

Группа	Время	Дискоциты	Эхиноциты	Стоматоциты	Дегенер.
животных	после				измененные
	воздействия				
Интактные	час	89,39±1,09	$6,77\pm0,88$	2,34±0,12	1,50±0,22
	сутки	92,27±1,09	5,37±0,76	1,38±0,19	$0,98\pm0,16$
	7 сутки	90,38±1,11	5,42±0,83	2,69±0,39	1,51±0,22
Стресс	час	43,68±1,18*	39,71±0,97*	12,38±1,02*	4,23±0,49*
	сутки	76,31±2,32*	15,81±1,12*	5,80±1,10*	2,08±0,87*
	7 сутки	86,20±1,07*	8,50±0,65*	3,94±0,19*	1,36±0,39
Стресс+	час	70,15±4,51*°	16,44±2,77*°	10,27±0,68*°	3,14±0,58*°
НИЛИ	сутки	80,01±3,56*°	10,89±1,03*°	7,01±0,65*	2,09±0,43*
5 мин	7 сутки	87,82±3,99	5,98±1,17°	4,40±0,55*	1,80±0,34
Стресс+	час	74,19±4,58*°	12,22±2,81*°	8,23±0,38*°	5,36±0,56*°
НИЛИ	сутки	84,70±2,87*°	10,20±2,77*°	3,05±0,68°	2,05±0,24*
15 мин	7 сутки	89,20±2,02	6,05±2,77°	3,15±0,62	1,60±0,27

Примечание: среднее \pm SEM, «*» — статистически значимые различия относительно значений интактной группы, p \leq 0,05; «°» —статистически значимые различия относительно значений стрессированной группы, p \leq 0,05.

Измерение диаметра эритроцитов показало, что через час после технологического стресса наблюдалось снижение количества нормоцитов и микроцитов и повышение содержания макроцитов относительно группы интактных животных. Воздействие НИЛИ привело к повышению нормоцитов в группах с облучение НИЛИ в область уха в течение 5 и 15 минут относительно стрессированных животных (табл. 2). Через сутки после действия стресса количество макроцитарных форм клеток оставалось повышенным относительно значений интактной группы. В группах после воздействия НИЛИ через час восстанавливалось количество нормоцитов и через час-сутки наблюдалось восстановление микро- и макроцитов.

Таблица 2. Распределение эритроцитов (%) крови коров по размеру на фоне стресса и воздействия НИЛИв экспериментах in vivo

Группа	Время	Диаметр эритроцитов, %		
животных	после	Нормоциты	Микроциты	Макроциты
	воздействия	_	_	_
Интактные	час	87,5±3,5	7,7±2,1	4,8±1,1
	сутки	88,1±3,2	7,5±1,7	4,4±0,8
	7 сутки	87,0±4,6	7,6±1,8	5,4±1,4
Стресс	час	80,9±3,2*	3,1±1,8*	16±3,1*
	сутки	82,0±4,7	7,8±1,9	10,2±2,4*
	7 сутки	85,4±4,0	7,1±1,4	7,5±1,6
Стресс+	час	84,3±3,3°	8,5±2,0°	7,2±1,8
НИЛИ	сутки	84,5±3,8	7,4±2,3	8,1±1,0*°
5 мин	7 сутки	87,8±3,6	5,6±2,1	6,6±1,7
Стресс+	час	80,2±4,5	10,4±2,4°	9,4±2,1*°
НИЛИ	сутки	83,4±5,2	4,6±1,0*	12,0±2,5*
15 мин	7 сутки	85,0±5,0	5,2±1,2	9,8±2,2

Примечание: среднее \pm SEM, «*» — статистически значимые различия относительно значений интактной группы, p \leq 0,05; «°» —статистически значимые различия относительно значений стрессированной группы, p \leq 0,05.

Одним из информативных методов, дающих полную характеристику о структуре и архитектонике поверхности эритроцитов, является лазерная интерференционная микроскопия (Браже 2009). Фазовые И соавт., изображения эритроцитов при стрессе и воздействии НИЛИ на фоне технологического лазерной стресса, полученные методом интерференционной микроскопии, в целом совпадали с размерами клетки при их анализе световой микроскопией (табл. 3).

При технологическом стрессе наблюдалось увеличение фазового диаметра и фазовой высоты эритроцитов: фазовый диаметр сохранялся повышенным относительно значений интактных клеток на протяжении всего срока наблюдения, фазовая высота на 1 час – 1 сутки регистрации.

Действие НИЛИ на фоне технологического стресса в течение 5 и 15 минут вызывало сохранение повышенного диаметра эритроцитов до первых

суток исследования, что было сопоставимо с действием технологического стресса, тогда как 7 суткам исследования данный показатель восстанавливался до уровня интактных значений. Фазовая высота при действии НИЛИ на фоне технологического стресса, значимо не отличалась от значений интактной группы, выраженные различия были получены относительно группы животных, после технологического стресса на час – сутки регистрации.

Таблица 3. Изменение оптико-геометрических параметров эритроцитов коров на фоне стресса и воздействия НИЛИ

Группа животных	Этапы исследования							
	час	сутки	7 сутки					
	Фазовый диаметр эритроцитов, (мкм)							
Интактная	4,54±0,02	4,57±0,04	4,57±0,04					
Стресс	4,84±0,06*	4,87±0,07*	4,73±0,06*					
Стресс+НИЛИ 5 мин	4,72±0,03*	4,71±0,04*	4,59±0,07					
Стресс+НИЛИ 15 мин	4,87±0,05*	4,82±0,04*	4,55±0,07					
	Фазовая высота эри	троцитов, (нм)						
Интактная	263,7±4,58	261,4±4,49	262,5±5,52					
Стресс	279,7±3,68*	269,5±2,08*	262,4±4,36					
Стресс+НИЛИ 5 мин	272,3±4,64°	261,7±3,72°	249,6±5,18*°					
Стресс+НИЛИ 15 мин	270,5±3,98°	262,6±3,79°	259,7±5,49					

Примечание: среднее \pm SEM, «*» — статистически значимые различия относительно значений интактной группы, p \leq 0,05; «°» —статистически значимые различия относительно значений стрессированной группы, p \leq 0,05.

Детализация морфологических параметров выявила, что эритроциты интактных животных имели ровную, гладкую поверхность. У животных, подвергшихся технологическому стрессу, клетки имели неровную поверхность, гладкость их терялась, на поверхности клеток появлялись отростки и зернистые наноструктуры — домены. К седьмым суткам исследования в группе животных, подвергшихся стрессу, происходила

агрегация доменов с образованием выростов (спикул). При действии НИЛИ регистрировалось уменьшение спикул на поверхности эритроцитов и восстановление фазовых характеристик.

Таким образом, проведенный сравнительный анализ выявил, что технологический стресс приводит к существенным сдвигам соотношения дискоцитов и патологических форм эритроцитов в сторону увеличения последних. Под воздействием НИЛИ на ухо крупного рогатого скота в течение 5 и 15 минут замедляется трансформация эритроцитов. Наиболее выраженные изменения морфологии эритроцитов отмечены при воздействии лазерным излучением в течение 15 минут.

Поскольку морфологию эритроцитов определяет структура мембраны, которая зависит от его функциональной активности (Емельянов и соавт., 2016) далее нами был проведен анализ ЭФПЭ, окислительного статуса клеток и их метаболизма.

ЭФПЭ позволяет оценить не только их электрокинетический потенциал и, следовательно, их морфофункциональное состояние мембран, но и общие закономерности изменения гомеостаза организма (Дерюгина и соавт., 2020). Анализ уровня ЭФПЭ показал, что при технологическом стрессе ЭФПЭ уменьшалась на час и сутки на 6% и 7% соответственно с последующим восстановлением исследуемого показателя до уровня интактной группы животных. При воздействии НИЛИ на фоне технологического стресса (как при 5, так и 15 мин воздействии) данный показатель превышал значения ЭФПЭ при технологическом стрессе на всех этапах исследования и был выше значений интактной группы на сутки после технологического стресса при 5 мин воздействия НИЛИ на 18% и на 7 сутки на 17% — при 15 мин воздействия НИЛИ (табл. 4).

Форма эритроцитов, способность к деформации тесно связаны с энергетическим метаболизмом. Главным источником энергии в эритроцитах является АТФ, которая участвует не только в поддержании формы, объема

клеток, но и участвует в регуляции функций клеток, регулирует переду рецепторного сигнала и изменяет метаболизм эритроцитов (González-Alonso, 2012; Puchulu-Campanella, 2013). Анализ концентрации АТФ показал, что снижение показателя наблюдалось в группе животных, подверженных действию технологического стресса через час и сутки после воздействия относительно показателей интактных значений. При воздействии НИЛИ в течение 5 и 15 мин наблюдался рост показателя по отношению к стрессированным животным через час и сутки после технологического стресса. Через сутки после технологического стресса при действии НИЛИ регистрировалось восстановление показателя до значений интактной группы.

Особенность эритроцитов является протекание в них 2,3 дисфосфоглицератного цикла. 2,3 дисфосфоглицерат является молекулярным регулятором транспорта кислорода, связывается с гемоглобином, снижает сродство последнего к кислороду. После действия технологического стресса наблюдался рост содержания 2,3 ДФГ по сравнению с интактной группой на протяжении всего срока наблюдения. В группах, где облучение НИЛИ осуществлялось в течение 5 и 15 минут после стрессового воздействия, уровень содержания 2,3 ДФГ в эритроцитах был ниже показателей животных после технологического стресса и восстанавливался до значений интактной группы к 7 суткам исследования.

В поддержании ионного гомеостаза эритроцитов основную роль играет $(Na^+/K^+-AT\Phi$ -a3a). натрий-калиевая аденозинтрифосфатаза Изменение активности Na⁺/K⁺-ATФ-азы отражает компенсаторно-приспособительную реакцию клеток (Дерюгина и соавт., 2017). При технологическом стрессе регистрировалось снижение активности Na^+/K^+ -АТФ-азы на протяжение всего срока наблюдения (табл. 4). В группах с облучением НИЛИ на фоне стрессового воздействия активность Na⁺/K⁺-ATФ-азы также была снижена относительно интактной группы, однако, выраженность изменения активности фермента была меньше и к 7 суткам после технологического стресса не отличалась от значений интактной группы.

Таблица 4. Изменение электрокинетических и метаболических показателей эритроцитов крови коров на фоне стресса и воздействия НИЛИ в экспериментах in vivo

Группа животных		Этапы исследован	ния					
	час	сутки	7 сутки					
$ЭФПЭ$, (мкм см $B^{-1}c^{-1}$)								
Интактные	0.91 ± 0.04	$0,92 \pm 0,02$	0.89 ± 0.05					
Стресс	0,85 ± 0,01*	0,87 ± 0,02*	$0,92 \pm 0,04$					
Стресс+НИЛИ 5 мин	0,95 ± 0,02°	1,09 ± 0,04*°	0.95 ± 0.05					
Стресс+НИЛИ 15 мин	0,92 ± 0,03°	1,00 ± 0,05*°	1,05 ± 0,04*°					
	МДА в эритроцит	ах, (нМоль/мл)						
Интактные	$1,70 \pm 0,35$	$1,87 \pm 0,21$	$1,85 \pm 0,24$					
Стресс	2,49 ± 0,26 *	2,35 ± 0,15*	$2,13 \pm 0,26$					
Стресс+НИЛИ 5 мин	1,71 ± 0,33°	$1,46 \pm 0,16^{\circ}$	1,31 ± 0,24*°					
Стресс+НИЛИ 15 мин	2,09 ± 0,29	1,89 ± 0,20°	1,70 ± 0,28°					
Aĸ	тивность СОД, ед.а	кт. /мг гемоглобина						
Интактные	4,81±0,53	4,83±0,49	4,89±0,46					
Стресс	5,48±0,23	5,81±0,26*	5,68±0,27					
Стресс+НИЛИ 5мин	5,54±0,29	5,89±0,29*	4,98±0,41					
Стресс+НИЛИ 15 мин	6,13±0,49*°	6,73±1,02*°	4,98±0,41					
Акт	ивность каталазы, м	икМ H ₂ O ₂ / л·мин·10	3					
Интактные	40,45±2,18	40,28±2,14	38,98±4,29					
Стресс	39,51±2,67	39,69±3,60	39,68±4,77					
Стресс+НИЛИ 5 мин	40,48±1,38	45,16±1,23*°	41,32±3,33					
Стресс+НИЛИ 15 мин	41,49±1,84	44,29±1,48*°	40,29±4,15					

	Восстановленный (GSH, мкмоль/мл	
Интактные	1,55±0,10	1,53±0,17	1,55±0,17
Стресс	1,33±0,07*	1,39±0,08	1,42±0,08
Стресс+НИЛИ 5 мин	1,54±0,16	1,60±0,15*°	1,52±0,19
Стресс+НИЛИ 15 мин	1,52±0,15	1,61±0,12*°	1,56±0,16
	АТФ, (мкм	оль/мл)	
Интактные	2,02±0,22	1,98±0,38	2,00±0,33
Стресс	1,32±0,28*	1,29±0,16*	1,80±0,27
Стресс+НИЛИ 5мин	1,81±0,23°	1,80±0,27°	2,05±0,18
Стресс+НИЛИ 15 мин	1,62±0,23*	1,83±0,33°	2,02±0,28
	2,3 ДФГ, (мк	тмоль/мл)	
Интактные	3,67±0,45	3,70±0,35	3,74±0,42
Стресс	5,74±0,42*	5,88±0,48*	4,49±0,36*
Стресс+НИЛИ 5мин	4,47±0,41*°	4,54±0,44*°	4,23±0,36
Стресс+НИЛИ 15 мин	4,75±0,37*°	4,46±0,35*°	4,03±0,33
	Na ⁺ /K ⁺ -АТФ-аза	, (мкмоль/мл)	
Интактные	4,82±0,12	4,42±0,07	3,56±0,12
Стресс	2,54±0,10*	2,64±0,08*	2,93±0,16*
Стресс+НИЛИ 5мин	3,47±0,14*°	3,74±0,14*°	3,33±0,08°
Стресс+НИЛИ 15 мин	4,75±0,12°	3,46±0,14*°	3,25±0,13°

Примечание: среднее \pm SEM, «*» — статистически значимые различия относительно значений интактной группы, p \leq 0,05; «°» —статистически значимые различия относительно значений стрессированной группы, p \leq 0,05.

Учитывая полифункциональную роль эритроцитов в механизмах адаптации, газотранспортных процессах и других жизненноважных

функциях организма, мы изучили влияние НИЛИ на активность антиоксидантов — супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, восстановленного глутатиона в эритроцитах животных исследуемых групп.

В ходе проведенных нами исследований в эритроцитах животных после технологического стресса, было отмечено увеличение активности СОД, максимально активность фермента изменилась на час и сутки эксперимента относительно интактной группы животных. Активность каталазы в эритроцитах у животных после технологического стресса снизилась. Минимум активности фермента отмечен на сутки эксперимента.

Полученные изменения синергизма в работе изученных ферментов неблагоприятный онжом рассматривать фактор, как показатель оксидативного стресса, способствующий накоплению активных форм кислорода (Hough et al., 2000; Джалабова и соавт., 1999; Менабде и соавт., 2011). В результате замедляется утилизация H_2O_2 , которая накапливаясь в эритроцитах, вызывает цитотоксические эффекты. Н₂O₂ вступая в реакцию Фентона, способствует образованию гидроксильного радикала, обладающего мощным цитотоксическим потенциалом. По данным Regan E.A. et al., (2008) Н₂О₂ вызывает деградацию гемовых белков и высвобождение ионов железа из гемоглобина, что усиливает цитотоксическое действие H_2O_2 . При избыточной концентрации H_2O_2 наблюдается инактивация каталазы и ГПО. Согласно исследованиям П.Г. Сторожук (2003) разнонаправленное изменение активностей СОД и каталазы характерно для гипоксии.

У животных, подвергшихся воздействию НИЛИ в области уха в течение 5 и 15 минут после технологического стресса отмечено увеличение активности СОД и каталазы относительно интактной группы животных. Наиболее выраженные изменения СОД, обнаружены у животных, которым воздействовали НИЛИ на область уха в течение 15 минут. Максимум активности фермента у животных данной группы приходился на первые сутки эксперимента. На седьмые сутки исследования активность СОД

снизилась и достигла показателя интактной группы животных. Показатели каталазной активности эритроцитов в этой группе животных на час и сутки также были значительно выше показателей интактной группы животных. На 7 сутки эксперимента, активность фермента статистически не отличалась от показателя интактной группы животных.

У животных, которым воздействовали НИЛИ в области уха в течение 5 минут, показатели активности каталазы эритроцитов на час и сутки эксперимента были выше, относительно группы животных, которым воздействовали НИЛИ в области уха в течение 15 минут. Полученные данные свидетельствуют о том, что облучение в течение 15 минут более эффективно действует на антиоксидантную систему (Доценко и соавт., 2010).

Одним из важных факторов неферментативной антиоксидантной системы является система глутатиона, которая обеспечивает поддержание структурной целостности эритроцитов, защищает гемоглобин от действия окислителей, регулирует кислородтранспортную функцию крови (Лановенко и соавт., 2012; Pastore et al., 2012). Снижение уровня восстановленного GSH, приводит к нарушению гомеостаза Са²⁺, нарушению морфологии мембран, структуры цитоскелета (Коржов и др., 2007; Кулинский и соавт., 2009; Go, 2011; Deponte M., 2013). Согласно исследованиям H. Lin et al. (2004) уровень восстановленного GSH наиболее критичный показатель в оценке действия стресса на организм, среди факторов антиоксидантной защиты. При исследовании уровня восстановленного GSH в эритроцитах животных после технологического стресса было выявлено снижение концентрации антиоксиданта относительно интактной группы животных, что подтверждает окислительное повреждение эритроцитов.

Анализ содержания восстановленного GSH в эритроцитах крови животных после воздействия НИЛИ показал, что после лазерного воздействия, уровень восстановленного GSH увеличивается, наибольшие изменения отмечены на первые сутки исследования при воздействии НИЛИ в

область уха в течение 15 минут относительно интактной группы животных.

Содержание продуктов перекисного окисления липидов одна из важных характеристик функционирования антиоксидантной системы. Один из таких продуктов - малоновый диальдегид (МДА), первичный медиатор стресса, способный вступать в реакции с аминосодержащими соединениями, что приводит к внутри- и межмолекулярным сшивкам и нарушениям функций белков (Davies et al., 2014). Согласно полученным данным, у животных при технологическом стрессе уровень МДА на протяжении всего эксперимента был повышен относительно интактных животных. При действии НИЛИ зарегистрировано снижение концентрации МДА. Значимое снижение концентрации МДА, в среднем на 40% при действии НИЛИ относительно стрессированных животных наблюдалось при облучении животных НИЛИ в течение 5 минут. При воздействии НИЛИ в течение 15 мин уровень МДА в эритроцитах через сутки восстанавливался до значений интактной группы животных.

Одной из задач нашего исследования является выяснение закономерностей между оптико-геометрическими показателями эритроцитов и показателями их метаболизма, что позволит разработать схему применения НИЛИ в животноводстве.

В ходе исследования обнаружены корреляционные зависимости между следующими показателями: фазовым диаметром — концентрацией АТФ; содержанием 2,3 ДФГ; фазовой высотой — концентрацией МДА. Рост фазового диаметра наблюдался при уменьшении концентрации АТФ и увеличении содержания 2,3 ДФГ, рост фазовой высоты при увеличении концентрации МДА в клетках (табл. 5).

Таким технологический образом, стресс негативное вызывал воздействие ЭФПЭ, на эритроциты, что проявилось В снижении Na^+/K^+ -АТФ-азы. концентрации ATΦ, активности повышении липопероксидации, концентрации 2,3 ДФГ и изменение морфологии

эритроцитов. Показано, что негативные процессы, вызванные действием технологического стресса, нивелировались при использовании НИЛИ.

Таблица 5. Корреляционная зависимость метаболических и окислительных показателей от фазовых параметров эритроцитов у коров при стрессе и действии НИЛИ (n=40)

Группа животных		ΑΤΦ	2,3 ДФГ		МДА
Интактные	Фазовый	-0,86 **	0,81**	Фазовая	0,82 **
Стресс	диаметр	-0,98 *	0,99 *	высота	0,97 *
Стресс+НИЛИ 5 мин		-0,92 **	0,96 *		0,95 **
Стресс+НИЛИ 15 мин		-0,97 *	0,96 *		0,97 *

Примечание: * p<0,01, ** p<0,05

Обсуждая полученные результаты исследований необходимо отметить, что при усиление ПОЛ - универсальный механизм повреждения клеток (Миронов и соавт., 2012). Усиление окислительных процессов приводит к окислительной модификации биомолекул, изменению активности ферментативных систем, нарушению структуры мембран (Рязанцева и соавт., 2009). Усиление липоперокисдации вызывает каскад событий, который морфологической проявляется изменении структуры клеток. Образующийся МДА, являющийся поперечно-сшивающим реагентом (Владимиров, 2000), приводит к нарушению компектной структуры функции, спектрина. Спектрин помимо структурной обеспечивает мембранную проницаемость, он оказывает регулирующее влияние на работу АТФаз, взаимосвязанных с комплексом спектрин-актин (Bennett et al., 2009). При этом, Na⁺/K⁺-ATФаза является липидзависимым ферментом, активность которой снижается при развитии стресс реакции и сочетается со снижением поверхностного заряда эритроцитов. Угнетение активности Na⁺/ K⁺-АТФазы приводит к увеличению концентрации внутриклеточного Ca²⁺ (Forman et al., 2004). Увеличение концентрации внутриклеточного кальция вызывает активацию скрамблазы, определяющей перемещение фосфатидилсерина на наружныу поверхность эритроцитарной мембраны. Выход фосфатидилсерина на внешнюю поверхность эритроцитов способствует изменению формы и как следствие, переход дискоцитов в эхиноциты и стоматоциты (Koshkaryev et al., 2003). Увеличение концентрации Ca²⁺ в цитозоле способствует снижению вязкости и уменьшению деформации эритроцитов (Oonishi et al, 1997; Sauer et al., 2000), изменению заряда мембраны, нарушению взаимодействия между компонентами цитоскелета и мембранными белками (Greenwalt, 2006; Alaarg et al., 2013), повышению хрупкости клеток и апоптозу клеток (Diez-Silva et al., 2010).

Кроме того, повышение измененных форм эритроцитов в группе животных после технологического стресса, можно объяснить изменением структуры клеточной мембран вследствие взаимодействия ее рецепторов с основными стресс-реализующими гормонами. Повышение содержания катехоламинов приводит к подавлению активности Na⁺/K⁺-ATФазы и, накоплению кальция в цитозоле эритроцита, что изменяет межмолекулярные взаимодействия (Маслова, 2005; Дерюгина и соавт., 2020).

Липиды эритроцитарных мембран регулирующие избирательность и функционирование ферментов, при дезорганизации становятся субстратом для активных форм кислорода, активации процессов перекисного окисления липидов, что приводит к потере клеток регулировать постоянство ионов, концентрацию антиоксидантов, работу мембрансвязанных ферментов, и в конечном итоге, способствует необратимым нарушениям структурнофункционального статуса клеток (Маслова, 2005).

Важнейшей регуляторной системой клеток является система свободнорадикальных процессов, с которой связаны многие биологические явления. Считается, что АФК играют ключевую роль в контроле клеточных функций. Кроме того, АФК могут непосредственно повреждать жизненно важные клеточные компоненты, такие как липиды и белки (Siems et al., 2000).

При этом в отношении НИЛИ выявлена активация антиоксидантной защиты (Кијаwa et al., 2014). В частности, НИЛИ действует непосредственно на ферменты-антиоксиданты, являющиеся молекулами-акцепторами, спектр поглощения которых совпадает со спектром излучения лазера. При поглощении излучения ферменты запускают регулируемые ими биохимические реакции (Брилль и соавт., 1999).

Можно предположить, что при действии НИЛИ преимущественно работает комплекс ферментов-антиокидантов (каталаза, церуллоплазмин, супероксиддисмутаза, дегидрогеназы). В целом они эффективно нейтрализует перекись водорода (Кулинский и соавт., 1990).

Антиоксидантные эффекты НИЛИ, вероятно, определяют стабилизацию клеточной мембраны и восстановление морфологии и ЭФПЭ. В свою очередь, увеличение электроотрицательности мембран эритроцитов и, следовательно, позитивное изменение микрореологических свойств эритроцитов, может определить улучшение газотранспортной функции и метаболических процессов в целостном организме.

Оценка электрофоретической подвижности эритроцитов - интегральной характеристикой состояния мембран и объективного показателя развития стресса позволяет изучить фазность протекания стрессовой реакции. Снижение ЭФПЭ отмечается при патологии и напряжении функций организма, обусловлено активацией симпато-адреналовой системы, рост показателя наблюдается в период выздоровления, либо в фазу повышения резистентности организма при развитии стресса (Дерюгина и соавт., 2018; 2020). Выявленные нами изменения ЭФПЭ позволяют заключить, что воздействие НИЛИ приводит к ограничению стрессовой реакции как на уровне клеток, так и в целом на уровне организма.

Кроме того, необходимо отметить, что в работах последних десятилетий установлена высокая корреляция между изменениями свойств мембран форменных элементов крови и характеристиками гомеостаза клеток

внутренних органов (Мойсеенко и соавт., 2007). С учетом вышеизложенного, можно предположить, что НИЛИ оказывает корригирующее действие при технологическом стрессе и стимулирует процессы защиты и адаптации, т.е. механизмы саногенеза животных с нарушенными функциями гомеостаза вследствие действия различных стрессовых факторов.

Показано, что под влиянием НИЛИ эндотелий восстанавливается, отмечена реактивация поврежденных ферментов, активация анаболических процессов, усиливается транскапиллярное кровообращение, улучшается энергетический метаболизм, нормализуется проницаемость сосудистотканевых барьеров (Гейниц и соавт., 2006).

При этом электромагнитная природа НИЛИ предполагает возможность его взаимодействия с множеством регуляторных механизмов в живых системах, как непосредственного воздействия на клетки, так и опосредовано через стресс-реализующие механизма. Однако недостаточно ясна роль внутриклеточных и межклеточных сигнальных систем в опосредовании эффектов НИЛИ. Далее были проведены исследования действия НИЛИ на изолированных эритроцитах для выявления непосредственного влияния НИЛИ на клетки, а так же действия НИЛИ на эритроциты, инкубированные с адреналином кортизолом стресс-реализующими концентрация которых в крови увеличивается при активации симпатоадреналовой и гипофизарно-надпочечниковой систем. Данное исследование предполагает раскрытие роли стресс-систем в реализации действия НИЛИ. Для исследования механизмов действия НИЛИ было проведено исследование действия НИЛИ на эритроциты инкубированные с глутаровым альдегидом и α- и β-блокаторами адренорецепторов.

Результаты данного раздела диссертации отражены в публикациях: Дерюгина А.В., Иващенко М.Н., Петров В.А., Белов А.А. Изменение формы эритроцитов крупного рогатого скота при технологическом стрессе // Естественные и технические науки. - 2020. - №6 (144). - С. 86-88; Дерюгина

А.В., Иващенко М.Н., Белов А.А., Петров В.А. Действие низкоинтенсивного лазерного излучения различных диапазонов на морфологию эритроцитов // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. - 2020. - №8. - С. 78-83.

3.2. Действие технологического стресса и НИЛИ на морфофункциональные характеристики эритроцитов крови коров в условиях in vitro

Визуализация эритроцитов крови нестрессированных коров методом лазерной интерференционной микроскопии показала, что клетки имели двояковогнутую форму, относительно гладкую поверхность с незначительной неоднородностью. После действия НИЛИ на эритроциты нестрессированных коров форма эритроцитов сохранялась, но на поверхности регистрировались «шероховатости» с выростами и выпуклостями (рис. 7 А), фазовые характеристики имели тенденцию к увеличению. Фазовые портреты стрессированных животных характеризовались появлением значительного числа выростов клеточной поверхности, вследствие чего эритроциты приобретали форму эхиноцитов (рис. 7 Б, В), диаметр клеток и толщина в области краев уменьшались, а размер центральной зоны увеличивался, регистрировалось достоверно значимое увеличение оптико-геометрических показателей эритроцитов относительно значений тех же показателей у интактной группы животных (табл. 6).

Воздействие НИЛИ на эритроциты стрессированных животных способствовало увеличению дискоцитов за счет уменьшения эхиноцитов (табл. 7), регистрировалось уменьшение фазового диаметра и фазовой высоты относительно показателей стрессированных животных. Поверхностная архитектоника характеризовалась уменьшением или полным нивелированием шероховатости поверхности клеток (рис. 7 Г), сохранялись стоматоциты и дегенеративно-измененные клетки. Происходило уменьшение

морфологически измененных клеток за счет уменьшения пула микроцитов с эхиноцитарной трансформацией (табл. 6, 7). Отмечено сохранение предгемолитических эритроцитов - стоматоцитов и дегенеративно-измененных клеток и эритроцитов с увеличенным размером клеток (табл. 8).

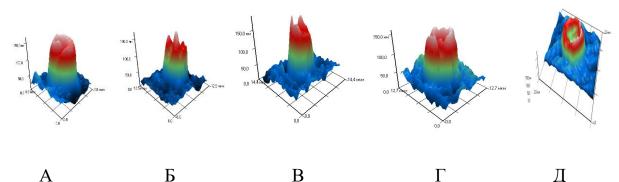


Рис. 7. Фазово-интерференционные изображения эритроцитов коров: A — типичные 3D-изображения эритроцитов при действии НИЛИ, Б, В — типичные 3D-изображения эритроцитов при стрессе, Г — типичные 3D-изображения эритроцитов при действии НИЛИ на фоне стресса, Д — дископит.

Таблица 6. Фазометрия эритроцитов исследуемых групп

Группа	Фазовый диаметр	Фазовая высота
Группа	эритроцитов, мкм	эритроцитов, нм
Интактные	4,55±0,03	0,21±0,02
Интактные+НИЛИ	4,59±0,04°	0,22±0,01°
Стресс	4,84±0,06*	0,27±0,02*
Стресс+НИЛИ 5 мин	4,72±0,03*°	0,24±0,03°
Стресс+НИЛИ 15 мин	4,68±0,02*°	0,26±0,04°

Примечание: среднее \pm SEM, «*» — статистически значимые различия относительно значений интактной группы, p \leq 0,05; «°» —статистически значимые различия относительно значений стрессированной группы, p \leq 0,05.

Таблица 7. Морфология эритроцитов исследуемых групп, %

	Эхиноциты	Стоматоциты	Дегенир.	Дискоциты
Группа			измененные	
			эритроциты	
Интактные	7,89±0,98	3,32±0,12	1,53±0,22	87,26±1,15
Интактные+НИЛИ	6,89±0,85°	3,01±0,48°	1,15±0,32°	88,95±1,64°
Стресс	46,95±1,12*	10,59±1,00*	5,32±0,87*	37,14±2,32*
Стресс+НИЛИ 5 мин	17,49±1,64*°	8,15±0,37*°	3,19±0,38*°	71,17±2,53*°
Стресс+НИЛИ 15 мин	18,42±2,78*°	8,19±0,75*°	4,25±0,66*	69,14±4,68*°

Примечание: среднее \pm SEM, «*» — статистически значимые различия относительно значений интактной группы, p \le 0,05; «°» —статистически значимые различия относительно значений стрессированной группы, p \le 0,05.

 Таблица 8.

 Распределение эритроцитов по диаметру в исследуемых группах, %

Группа	Нормоциты	Микроциты	Макроциты
Интактная	87,23±0,51	8,00±0,46	4,77±0,62
Интактная+НИЛИ	90,20±0,71	6,73±0,66	3,07±0,17
Стресс	33,19±0,71*	50,44±0,76*	16,37±1,05*
Стресс+НИЛИ 5 мин	59,42±0,53*°	22,16±0,31*°	18,42±0,75*°
Стресс+НИЛИ 15 мин	58,60±0,49*°	27,25±0,63*°	14,15±0,68*

Примечание: среднее \pm SEM, «*» — статистически значимые различия относительно значений интактной группы, p \leq 0,05; «°» —статистически значимые различия относительно значений стрессированной группы, p \leq 0,05.

При оценке электрокинетических и метаболических показателей эритроцитов после стресса было выявлено снижение ЭФПЭ, увеличение концентрации МДА и 2,3 ДФГ на фоне снижения концентрации АТФ и активности Na^+/K^+ -АТФазы относительно показателей интактной группы

животных. Действие НИЛИ на эритроциты от стрессированных животных увеличивало электроотрицательность, восстанавливало концентрацию $AT\Phi$, активность Na^+/K^+ - $AT\Phi$ азы и снижало уровень липопероксидации до показателей интактных животных (табл. 9).

Таблица 9. Электрокинетические и метаболические показатели эритроцитов исследуемых групп

Группа	ЭФПЭ	МДА	Na^+/K^+ -АТ Φ аза	ΑΤΦ	2,3 ДФГ
	(мкм см	(нМоль/мл)	(мкмоль/мл)	(мкмоль/мл)	(мкмоль/мл)
	$B^{-1}c^{-1}$				
Интактные	1,09±0,08	2,04±0,33	2,91±0,66	1,09±0,34	3,28±0,55
Интактные	$1,01\pm0,10$	$2,25\pm0,31$	2,51±0,50	1,19±0,32	$4,08\pm0,58$
+НИЛИ					
Стресс	0,75±0,07*	3,37±0,45*	1,85±0,35*	0,57±0,26*	5,34±0,61*
Стресс+НИЛИ	1,06±0,16°	2,53±0,25°	2,22±0,32°	0,89±0,25°	4,82±0,42*°
5 мин					
Стресс+НИЛИ	1,09±0,11°	2,79±0,33°	2,34±0,42°	1,01±0,27°	4,66±0,38*°
15 мин					

Примечание: среднее \pm SEM, «*» — статистически значимые различия относительно значений интактной группы, р \le 0,05; «°» —статистически значимые различия относительно значений стрессированной группы, р \le 0,05.

Выявлена корреляционная зависимость между фазовой высотой и концентрацией МДА (R=0,93), фазовым диаметром и концентрацией 2,3ДФГ (R=0,96); сильная обратная корреляция установлена между фазовым диаметром и концентрацией АТФ (R= -0,91) при стрессе. При действии НИЛИ на фоне стрессе показана зависимость между фазовой высотой и концентрацией МДА (R=0,90), фазовым диаметром и концентрацией 2,3ДФГ (R=0,98); между фазовым диаметром и концентрацией АТФ (R= -0,97)

Таким образом, НИЛИ, проявило действие на эритроциты коров после технологического стресса, тогда как на эритроциты нестрессированных коров не оказывало значимого воздействия. Данное положение согласуется с литературными данными, согласно которым отмечено, что в норме клеточная среда оптимальна и эффекты НИЛИ не столь выражены (Spodaryk, 2001),

тогда как в патологических условиях НИЛИ будет иметь гораздо более выраженные эффекты (Karu, 2002).

Действие НИЛИ на стрессированные эритроциты оказывало влияние на морфологические и функциональные свойства эритроцитов, что сочеталось с изменением фазовых показателей. Следует подчеркнуть, что при действии НИЛИ не происходило полного восстановления морфологически измененных клеток. НИЛИ фактически не изменяло количества макроцитов и количество микроцитов уменьшалось при действии НИЛИ в 2 раза. При этом сохранялись эритроциты с увеличенной сферичностью клеток. Вероятно, некротически измененные клетки и клетки с необратимым процессом повреждения не чувствительны к действию НИЛИ. Кроме того, при действии НИЛИ на стрессированные

НИЛИ способствовало восстановлению рельефа поверхности эритроцита. Показано, что действие НИЛИ приводит к уменьшению размера молекулярных структур на поверхности мембран эритроцитов, увеличенных после действия на них свободных радикалов (Cui et al., 2007; Deryugina et al., 2020). Восстановление морфологии эритроцитов можно объяснить действием НИЛИ через уменьшение процессов липопероксидации, а так же через изменение скорости гликолиза. Есть мнение, что изменение активности ферментов при действии НИЛИ, связано с их структурной перестройкой, переходом в оптимальную на данный момент конформацию (Kassak et al., 2006). Увеличение активности гликолиза определяет рост органических фосфатов в клетках. НИЛИ вызывает усиление гликолиза в эритроцитах. Изменение содержания органических фосфатов в клетке вызывает целый ряд структурных перестроек эритроцитарных мембран (Mattecci et al., 1992). АТФ и 2,3 ДФГ определяют фосфорилирование мембранных белков и их подвижность (Крылов и соавт., 2014).

Таким образом, НИЛИ усиливает синтез макроэргов, что повышает деформируемость эритроцитов, стабилизирет их мембраны, изменяет

процессы перекисного окисления липидов в направлении образования меньших количеств конечных продуктов окисления. Данные эффекты могут быть связаны непосредственным действием лазерного излучения на клетку, обусловленным фотостимулирующим действием, снижением микровязкости мембраны, улучшением транспортных и ферментативных функций (Schindl et 2002). воздействие НИЛИ Однако показанное значимое стрессированные эритроциты позволяет предположить, что действие НИЛИ определяется функциональным и метаболическим состоянием эритроцитов (Дерюгина и соавт., 2021). Далее был проведен анализ действия НИЛИ на фоне адреналина и кортизола – основных стресс-реализующих гормонов, а так же изучен вклад различных структур эритроцитов в реализации действия НИЛИ.

Результаты данного раздела диссертации отражены в публикациях: Deryugina A.V., Ivashchenko M.N., Ignatyev P.S., Belov A.A., Talamanova M.N., Petrov V.A. Research of Erythrocytes Membranes Change by Laser Interference Microscopy // Opera Med et Physiologica. - 2020. - Vol. 7 (2). - P. 5-11; Дерюгина А.В., Иващенко М.Н., Игнатьев П.С., Белов А.А., Петров В.А. Диагностические возможности анализа эритроцитов методом лазерной интерференционной микроскопии // Клиническая лабораторная диагностика. - 2021. - Т.66, №1. - С. 22-25.

3.3. Исследование морфоструктурного и функционального состояния модифицированных эритроцитов при стрессе и действии НИЛИ в условиях in vitro

В ходе проведенных исследований *in vitro* выявлено, что модификация клеток адреналином определила уменьшение количества дискоцитов за счет увеличения стоматоцитов и дегенеративно-изменённых форм клеток. Инкубация эритроцитов с кортизолом и с α-блокатором определила

уменьшение эхиноцитарной трансформации клеток. Воздействие глутарового альдегида и β-адреноблокатора не приводило к значимым изменениям морфологии эритроцитов (табл. 10).

Таблица 10. Морфологические формы эритроцитов крупного рогатого скота на фоне различной модификации мембраны, %

Группа	Эхиноциты	Стоматоциты	Дегениративно изм. эр.	Дискоциты			
Без воздействия НИЛИ							
Интактные	3,45±0,4	$0,70\pm0,3$	3,10±0,8	92,75±1,2			
Адреналин	3,18±0,6	2,70±0,4*	4,70±0,6*	89,4±1,0*			
Кортизол	2,30±0,5*	0,43±0,2	2,48±0,7	94,79±0,9			
β-адреноблокатор	2,58±0,6	0,70±0,3	2,75±0,6	93,98±0,9			
α-адреноблокатор	1,50±0,5*	1,20±0,2	3,00±0,7	94,5±1,2			
Гутаровый альдегид	3,48±0,4	0,78±0,2	2,13±0,4	92,63±0,8			
	C	воздействием Н	или				
нили	0,60±0,1*	1,10±0,2	2,80±0,5	95,50±0,8*			
Адреналин	4,80±0,4* "	1,28±0,2 *"	3,78±0,6	90,14±0,9* **			
Кортизол	0,63±0,05*"	0,63±0,3**	2,80±0,6	95,94±0,8*			
β-адреноблокатор	2,08±0,6* **	1,02±0,2	2,83±0,6	94,07±0,8			
α-адреноблокатор	0,80±0,5*	1,30±0,3	2,95±0,7	94,95±1,2			
Гутаровый альдегид	3,16±0,4	0,91±0,4	2,45±0,4	93,48±0,8			

Примечание: среднее \pm SEM, «*» — статистически значимые различия относительно значений интактной группы, р \leq 0,05; «**» —статистически значимые различия относительно значений к группе с НИЛИ, р \leq 0,05; «"»—статистически значимые различия относительно значений с НИЛИ по отношению без воздействия НИЛИ в соответствующих группах.

Влияние НИЛИ на эритроциты, инкубированные с адреналином, определило увеличение количества эхиноцитов и снижение количества

стоматоцитов относительно моновоздействия адреналина; при действии на эритроциты преинкубированные с кортизолом, α- и β-блокаторами адренорецепторов уменьшалось количество эхиноцитов относительно моновоздействий. На фоне инкубации с глутаровым альдегидом облучение клеток не вызывало значимых изменений.

Интерференционно-микроскопические исследование эритроцитов, инкубированных с адреналином, сопровождались появлением на поверхности мембраны выпуклых уплотнений, отростков, увеличением сферичность клеток (рис. 8 А). Прогрессировало содержание необратимо измененных форм (в виде «спущенного мяча») (рис. 8 Б).

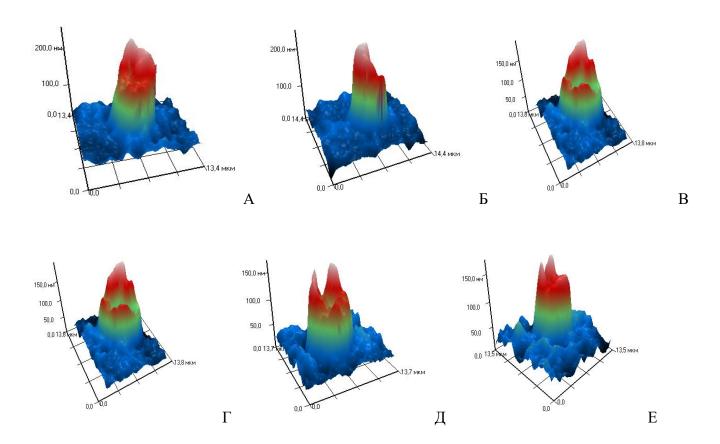


Рис. 8. Фазово-интерференционные изображения эритроцитов коров на фоне различной модификации мембраны эритроцитов: типичные 3D-изображения эритроцитов при действии адреналина (A, Б), кортизола (B), глутарового альдегила (Г), β-адреноблокатора (Д), α-адреноблокатора (Е).

При инкубации эритроцитов с кортизолом на поверхности клеток появлялись многочисленные мезополосы, поверхность дискоитов была неровной с выпуклостями (рис. 8 В).

После взаимодействия эритроцитов с глутаровым альдегидом (рис. 8 Г), β-адреноблокатором (рис. 8 Д) происходило углубление центра клетки, при действии α–адреноблокатора в большей степени наблюдалось стомато-эхиноцитарная трансформация клеток (рис. 8 Е).

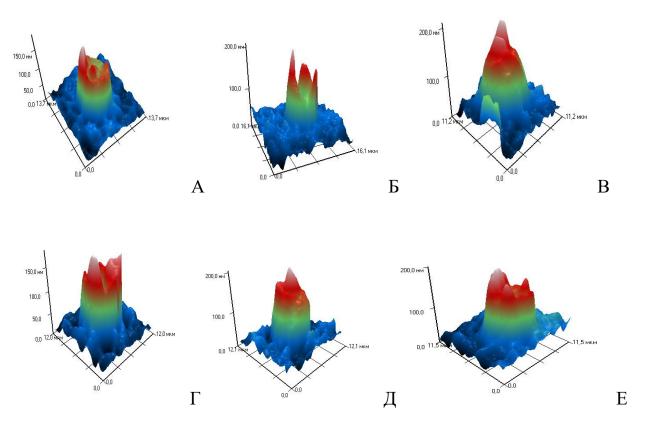


Рис. 9. Фазово-интерференционные изображения эритроцитов коров при действии НИЛИ на фоне различной модификации мембраны эритроцитов: типичные 3D-изображения эритроцитов при действии кортизола (A, Γ), глутарового альдегида (Б), адреналина (В), β-адреноблокатора (Д), α-адреноблокатора (Е).

При действии НИЛИ на эритроциты после инкубации с исследуемыми соединениями клетки имели различную кривизну и глубину центрального углубления: при действии НИЛИ на фоне кортизола (рис. 9 А) и глутарового альдегида (рис. 9 Б) наблюдалась максимальное уменьшение центральной впадины, наименьшее - при действии адреналина (рис. 9 В). При этом форма эритроцитов при действии НИЛИ на фоне кортизола приближалась к дискоидальной (рис. 9 А), хотя и сохранялась выраженность мезополос (рис. 9 Г). Действие НИЛИ на эритроциты, инкубированные с адреналином, сопровождалось сохранением выраженных уплотнений выпуклых поверхности с сохранением морфологически измененных форм клеток. При НИЛИ воздействии на β-адреноблокаторов фоне α-И снижалась выраженность эхиноцитарно-стомацитарной трансформации (рис. 9 Д, Е).

Результаты исследования оптико-геометрических параметров: фазового диаметра и фазовой высоты эритроцитов, показали, что фазовый диаметр эритроцитов увеличивался при действии на эритроциты адреналина и глутарового альдегида и продолжал увеличиваться при действии НИЛИ на фоне глутаровой фиксации и адреналина (табл. 11). Снижение фазового фазового диаметра относительно данного показателя интактных клеток наблюдалось при инкубации эритроцитов с кортизолом, α- и β-блокаторами адренорецепторов.

Влияние НИЛИ на эритроциты без дополнительного воздействия не выявило значимого изменения показателя. В случае действия НИЛИ на фоне инкубации эритроцитов с кортизолом, α- и β-адреноблокаторами происходило дальнейшее уменьшение фазового диаметра клеток по отношению к моновоздействию. соответствующему Подсчет корреляционных зависимостей выявил, ЧТО рост фазового диаметра сопровождается увеличением концентрации 2,3 ДФГ (R=0,678) и снижением концентрации АТФ (R=0,848) т.е. усилением энергетического истощения эритроцитов сопровождалось ростом фазового диаметра.

Таблица 11. Показатели фазовых портретов эритроцитов крови крупного рогатого скота при модификации их структуры

Исследуемые вещества	Фазовый диаметр,	Фазовая высота,
	МКМ	НМ
Интактные	4,54±0,01	216,8±4,66
НИЛИ	4,57±0,03	223,3±4,76
Адреналин	4,58±0,02 *	225,4±4,62*
Адреналин + НИЛИ	4,67±0,04 * **	219,2±4,72
Кортизол	4,36±0,03 * **	177,8±6,09 * **
Кортизол + НИЛИ	4,28±0,05 * **	145,4±4,59 * **
Глутаровый альдегид	4,65±0,05 *	217,7±2,87 **
Глутаровый альдегид + НИЛИ	4,70±0,07 * **	214,5±2,66 **
β-адреноблокатор	4,21±0,03* **	158,4±2,76 * **
β-адреноблокатор + НИЛИ	4,08±0,04 * **	154,0±2,88 * **
α-адреноблокатор	4,58±0,04	188,4±4,16* **
α-адреноблокатор + НИЛИ	4,55±0,03	185,8±3,90 * **

Примечание: среднее \pm SEM, «*» – статистически значимые различия относительно значений интактной группы, р \le 0,05; «**» –статистически значимые различия относительно значений группы НИЛИ, р \le 0,05.

Анализ фазовой высоты эритроцитов выявил увеличение показателя при инкубации эритроцитов с адреналином и тенденцию к увеличению при действии НИЛИ и глутарового альдегида относительно значений интактных клеток. Фазовая высота снижалась при инкубации клеток с кортизолом, а- и β--блокаторами адренорецепторов относительно значений интактной группы (табл. 11). Действие НИЛИ на исследуемые группы эритроцитов вызывало снижение фазовой высоты относительно значений, полученных Наиболее моновоздействии. выраженные изменения показателя регистрировались при действии НИЛИ на фоне кортизола и β-блокатора адренорецепторов. Корреляционные зависимости выявили снижение фазового диаметра при уменьшении процессов липопероксидации и

уменьшении концентрации МДА (R=0,96).

Предполагается, что фазовая высота, так же как и показатель преломления, могут характеризовать концентрацию и количество вещества в клетке, а также интенсивность метаболических процессов (Таганов и соавт., 2011).

Исследование концентрации МДА при действии используемых в работе веществ показало, что концентрация МДА повышалась при действии адреналина и глутарового альдегида относительно данных интактной группы, тогда как при действии α- и β-адреноблокаторов, кортизола отмечено снижение концентрации МДА относительно значений интактной группы соответственно (табл. 12).

Таблица 12. Влияние различных факторов на концентрацию малонового диальдегида (нМоль/мл) в эритроцитах

Воздействие	НИЛИ	Без НИЛИ
Интактные		$0,9029 \pm 0,0582$
нили	$0,9855 \pm 0,0902$	
Адреналин	1,1620 ± 0,0980 * "	1,2167 ± 0,0822 *
Кортизол	0,5007 ± 0,0923 * **	0,6859 ± 0,0995 *
α-адреноблокатор	0,6490 ± 0,0795 * **	0,7400 ± 0,0973 *
β-адреноблокатор	0,5500 ± 0,0681 *	0,5640 ± 0,0985 *
Глутаровый альдегид	$1,0047 \pm 0,0875$	$1,0833 \pm 0,0803*$

Примечание: среднее \pm SEM, «*» — статистически значимые различия относительно значений интактной группы, р \le 0,05; «**» — статистически значимые различия относительно значений группы с воздействием НИЛИ, р \le 0,05; «"» — статистически значимые различия в группе с воздействием НИЛИ по отношению к группе без воздействия НИЛИ, р \le 0,05.

Действие НИЛИ определило снижение концентрации МДА в исследуемых сериях по сравнению с соответствующим моновоздействием.

Исследование концентрации 2,3 ДФГ в эритроцитах выявило, что

инкубация эритроцитов адреналином, кортизолом, **β**-блокатором адренорецепторов приводили к снижению содержания 2,3 ДФГ эритроцитах. Действие α-адреноблокатора и глутаровая фиксация не изменило значение данного показателя относительно значений интактной группы (табл. 13). Тенденция к снижению концентрации 2,3 ДФГ была зарегистрирована в группе с глутаровым альдегидом. Действие НИЛИ на преинкубированные эритроциты, c адреналином, кортизолом, адреноблокаторами проявилось в росте концентрации 2,3 ДФГ, не было выявлено значимых изменений в серии с глутаровым альдегидом по отношению к уровню показателей без воздействия НИЛИ.

Таблица 13. Влияние различных факторов на концентрацию 2,3 ДФГ (мк моль/мл эритроцитов) в эритроцитах

Воздействие	НИЛИ	Без НИЛИ
Интактные		3,12±0,25
НИЛИ	3,36±0,38	
Адреналин	3,16±0,36 "	2,36±0,26*
Кортизол	2,97±0,23**	2,47±0,25*
α-адреноблокатор	3,61±0,21*	3,56±0,41
β-адреноблокатор	3,03±0,32 "	2,30±0,34*
Глутаровый альдегид	$2,97 \pm 0,24$	$2,89 \pm 0,23$

Примечание: среднее \pm SEM, «*» — статистически значимые различия относительно значений интактной группы, р \le 0,05; «**» — статистически значимые различия относительно значений группы с воздействием НИЛИ, р \le 0,05; «"» — статистически значимые различия в группе с воздействием НИЛИ по отношению к группе без воздействия НИЛИ, р \le 0,05.

Исследование концентрации АТФ в эритроцитах показало, что инкубация эритроцитов с адреналином приводила к снижению показателя относительно интактной группы. При действии β-блокатора адренорецепторов регистрировался рост показателя. В остальных вариантах действие исследуемых веществ не вызывало значимых изменений показателя

(табл. 14). Действие НИЛИ на эритроциты после предварительной инкубации с кортизолом и блокаторами адренорецепторов вызывало рост концентрации АТФ. Преинкубация с адреналином вызывала нивелирование эффектов НИЛИ и приводила к снижению концентрации АТФ относительно моновоздействия адреналина. При глутаровой фиксации клеток не регистрировалоось значимых изменений относительно значений интактной группы.

Таблица 14. Влияние различных факторов на концентрацию АТФ (мк моль/мл эритроцитов) в эритроцитах

Воздействие	НИЛИ	Без НИЛИ
Интактные		1,14±0,09
НИЛИ	1,20±0,11	
Адреналин	0,70±0,08* **	0,89±0,11*
Кортизол	1,36±0,12*	1,26±0,10
α-адреноблокатор	1,13±0,09	1,10±0,09
β-адреноблокатор	1,45±0,10*	1,31±0,14*
Глутаровый альдегид	0,99 ± 0,10 **	1,01±0,09

Примечание: среднее \pm SEM, «*» — статистически значимые различия относительно значений интактной группы, p \leq 0,05; «**» — статистически значимые различия относительно значений группы с воздействием НИЛИ, p \leq 0,05.

ЭФПЭ при действии адреналина и на фоне альфа-адреноблокатора снижалась, при действии кортизола — увеличивалась и значимо не изменялась при действии НИЛИ, β-блокатора адренорецепторов и глутаровой фиксации относительно значений интактной группы (табл. 15).

Действие НИЛИ на эритроциты, предварительно инкубированные с адреналином, кортизолом и α -блокатором вызвало рост ЭФПЭ относительно уровня значений без воздействия НИЛИ.

Таблица 15. Электрофоретическая подвижность эритроцитов (мкм см $B^{-1}c^{-1}$) при модификации мембраны и действии НИЛИ

Тип воздействия	нили	Без НИЛИ
Интактные		$0,9028 \pm 0,0565$
нили	$1,\!1076 \pm 0,\!0488$	
Адреналин	0,8709 ± 0,0708 **	$0,8055 \pm 0,0412*$
Кортизол	1,1947 ± 0,0626* **	$1,1336 \pm 0,0581*$
α-адреноблокатор	0,7606 ± 0,1535 * "	0,4679 ± 0,0433 *
β-адреноблокатор	$1,0387 \pm 0,1683$	$0,8543 \pm 0,1192$
Глутаровый альдегид	$1,0855 \pm 0,1928$	$0,9606 \pm 0,0300$

Примечание: среднее \pm SEM, «*» — статистически значимые различия относительно значений интактной группы, р \le 0,05; «**» — статистически значимые различия относительно значений группы с воздействием НИЛИ, р \le 0,05; «"» — статистически значимые различия в группе с воздействием НИЛИ по отношению к группе без воздействия НИЛИ, р \le 0,05.

Анализируя полученные результаты следует отметить, что при НИЛИ на эритроциты предварительно инкубированные с адреналином, восстановление характеристик эритроцитов не наблюдалось, тогда как при действии НИЛИ на эритроциты после инкубации с кортизолом, эффекты НИЛИ усиливались, что проявлялось в увеличении концентрации органических фосфатов, ЭФПЭ И снижении концентрации МДА. Следовательно, на фоне истощения энергетических ресурсов эритроцитов при действии адреналина влияние НИЛИ усугубляет негативные эффекты, связанные усилением окислительных процессов снижением И энергетических ресурсов, а на фоне действия кортизола – направлено на нормализацию клеточных функций. Динамика показателей эритроцитов, полученная методом лазерной интерференционной микроскопии показала зависимость от функционального состояния эритроцитов и определялась изменением концентраций АТФ, 2,3ДФГ и МДА.

Обсуждая полученные эффекты можно предположить реализацию

действия НИЛИ через адренорецепторы, которые являются белковыми структурами. Показано, что НИЛИ оказывает влияние на белки (Xu et al., 2008). Мишенью действия НИЛИ считается водное окружение и лазерно-индуцированная димеризация некоторых рецепторов, а затем их фосфорилирование в результате чего происходит активация сигнальных системы клеток (Duan et al., 2001).

Известно, эритроциты содержат α- и β-адренорецепторы. ЧТО Взаимодействие адреналина с β-адренорецептором приводит к активации альфа-субъединицы G-белка с увеличением уровня цАМФ, активирует протеинкиназу А. Действие протенкиназы А связано регулирующим влиянием данного фермента на метаболизм глюкозы. В частности, протеинкиназа A активирует ингибитор фосфо-протеинфосфотазы-1 и тем самым ингибирует фосфатазу. При этом, глюкозо-6фосфотаза является ключевым ферментом гликолиза. Через активацию альфаадренорецепторов может наблюдаться увеличение концентрации диацилглицерола и инозитолтрифосфата (Duan, et al., 2001). В результате увеличивается Ca^{2+} и активируется протеинкиназа С (Braun et al., 2005). Протеинкиназы участвуют в различных функциях эритроцитов (Musashi, 2000). модификация действия НИЛИ Выявленная при блокаде адренорецепторов позволяет предположить реализацию действия НИЛИ через сигнальные каскады, связанные с активацией адренорецепторов и реализующиеся через протеинкиназы.

Известно, что НИЛИ может снижать скорость протекания ПОЛ, оказывать стабилизирующее влияние на жидкокристаллическую структуру липидного бислоя (Срубилин и соавт., 2012). Подтверждением реализации липидного компонента в действии НИЛИ на эритроциты являются эксперименты с глутаровым альдегидом, который фиксирует белки мембраны, образуя прочные ковалентные связи. При глутаровой фиксации наблюдалось проявление действия НИЛИ на ПОЛ.

Таким образом, влияние НИЛИ может быть результатом прямого фотовозбуждения нестабильных (колебательных, электронных вращательных) состояний молекул или атомов, описываемый каскадом квантовых фотофизических явлений: прямое использование энергии кванта света изменение квантово-механического состояния молекулы фотоакцептора с последующим расходом энергии на разрыв или образование новых связей в этой молекуле, или на усиление её химической активности. При этом специфичность конечного фотобиологического ответа определяется не на уровне первичных реакций, а на основе вторичных клеточных сигнальных каскадов (Karu, 2002).

Полученные данные свидетельствуют, что действие НИЛИ реализуется через различные механизмы, что, вероятно, повышает эффективность его использования при индустриальной технологии содержания животных (Дерюгина и соавт., 2018; 2021).

Для верификации эффективности действия НИЛИ в повышении резистентности организма коров при технологическом стрессе далее проведены исследования гематологических, биохимических показателей крови, содержания кортизола в крови коров и физиолого-биохимические показатели молока.

Результаты данного раздела диссертации отражены в публикациях: Дерюгина А.В., Самоделкин А.Г., Иващенко М.Н., Игнатьев П.С., Таламанова М.Н., Белов А.А. Оценка влияния низкоинтенсивного лазерного излучения на морфологию эритроцитов при стрессе методом лазерной интерференционной микроскопии // Известия Уфимского научного центра РАН. 2018. №3 (1). С. 108-112; Дерюгина А.В., Иващенко М.Н., Белов А.А., Игнатьев П.С., Метелин В.Б. Применение лазерной интерференционной микроскопии для оценки функционального состояния эритроцитов // Цитология. 2021. Т. 63. № 1. С. 74–79; Дерюгина А.В., Иващенко М.Н., Таламанова М.Н., Белов А.А., Петров В.А. Структурная организация мембран эритроцитов при стрессе и

коррекции низкоинтенсивным лазерным излучением // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. 2021. №1 (49). С. 3-7.

3.4. Влияние технологического стресса и НИЛИ на физиологобиохимические показатели крови крупного рогатого скота

Физиолого-биохимические показатели крови - индикатор работы всего организма и отражают степень адаптации животных к различным стрессирующим факторам (Ковтуненко, 2012), поэтому гематологические показатели крови позволяют объективно оценить характер реактивности и резистентности организма (Семенович и соавт., 2011).

В связи с этим для оценки корректирующего влияния НИЛИ на реактивность организма коров при технологическом стрессе и влиянии НИЛИ были изучены некоторые гематологические показатели (табл. 16).

Анализируя общее количество лейкоцитов в крови коров через час - неделю после технологического стресса было показано увеличение их количества. Увеличение числа лейкоцитов свидетельствует о сверхмобилизации защитных сил организма, в результате которого истощаются резервы организма (Хайруллина и соавт., 2011). В группе животных, после воздействия НИЛИ, повышение общего числа лейкоцитов регистрировалось только к первому часу после технологического стресса и с 7 суток достигало уровня интактной группы.

Число эритроцитов в исследуемых группах также изменилось по сравнению с интактной группой. В группе животных после технологического стресса количество эритроцитов было ниже по сравнению с интактной группой в течение 7 суток, что сопровождалось снижением гемоглобина и соответственно уменьшало кислород транспортные возможности крови при стрессе. У животных после воздействия НИЛИ содержание эритроцитов относительно интактной группы было ниже на первый час исследования. На

следующих этапах исследования количество эритроцитов не отличалось от показателей интактной группы, что сочеталось с ростом гемоглобина. Повышение гемоглобина указывает на более высокую интенсивность обменных процессов в организме (Молянова и соавт., 2021).

Таблица 16. Динамика гематологических показателей крови опытных коров

Группа	Этапы	Эритроциты,	Гемоглобин,	Лейкоциты,
животных	исследования	*10 ¹² /л	г/л	*10 ⁹ /л
Интактные	час	7,35±0,32	123±2,22	6,28±0,88
	1 сутки	7,43±0,46	121±3,41	6,17±1,16
	7 сутки	7,21±0,57	124±3,74	6,37±0,76
Технологический	час	6,47±0,74*	98±3,82*	10,27 ±1,19*
стресс	1 сутки	5,33±0,58*	99±4,74*	8,96 ± 1,09*
	7 сутки	5,84±0,84*	110±4,63*	8,77 ± 0,80*
НИЛИ, 5 мин.	час	6,56±0,42*	111±3,43*	8,98±0,55*
	1 сутки	6,72±0,48	113±2,48*	$7,54 \pm 1,55$
	7 сутки	6,68±0,46	116±3,81*	7,12± 1,06
НИЛИ, 15 мин.	час	6,84±0,21*	118±3,62*	8,36±0,11*
	1 сутки	6,91±0,57	121±4,37	$7,47 \pm 1,13$
	7 сутки	7,01±0,46	125±3,52	6,45± 1,25
Норма по Кондрахину, 2004		5–7,5	99–129	4,5-12,0

Примечание: среднее \pm SEM, «*» – статистически значимые различия относительно значений интактной группы, p \leq 0,05.

Критериями обменных процессов и косвенными маркерами стрессового воздействия на организм животного служат биохимические показатели крови: количество общего белка, соотношение основных белковых фракций, активность аминотрансфераз, мочевины, глюкозы,

креатенина, уровня холестерина (Курденко и соавт., 2017). В таблице 17 представлены биохимические показатели крови коров при технологическом стрессе и коррекции состояния организма НИЛИ.

В условиях технологического стресса на первый час и первые сутки отмечено снижение в крови количества общего белка, его фракций, креатинина, мочевины, холестерола, отмечено повышение содержания в крови ферментов переаминирования по сравнению с показателями интактной группы. В состоянии технологического стресса содержание глюкозы, общего белка, альбуминов в крови было повышенным в течение 7 суток, что характеризует стресс-реакцию, при развитии которой происходит выброс в кровь адреналина, мобилизующего энергетические ресурсы организма для преодоления влияния стресса (Кушнерова и соавт., 2005). Отмечены изменения минерального обмена - гипокальциемия.

Снижение креатинина при технологическом стрессе – конечного продукта метаболизма кратинфосфата и одного из компонентов остаточного азота, позволило оценить экскреторную функцию почек и интенсивность метаболизма в мышечной ткани коров. Было показало, что при технологическом стрессе содержание креатинина оставалось в пределах физиологической нормы (56 -162 ммоль/л), однако через час и сутки после технологического стресса уровень креатинина был ниже относительно интактной группы.

Также отмечено снижение содержания холестерола, который является основным компонентом липидного обмена у животных. Холестерол используется для построения клеточных мембран, синтеза половых гормонов, витамина D, является предшественником желчных кислот. Биохимический анализ сыворотки крови через час — первые сутки после технологического стресса показал, что содержание холестерола было ниже данных интактной группы.

Таблица 17. Динамика биохимических показателей крови опытных коров

Группа животных	Общий белок, г/л	Альбу- мины, %		улинь	·	Холес- терол, ммоль/л		вина, ммоль	ME/	АСТ, МЕ/л	инин, ммоль		Р, ммоль/ л
			a	b	γ		/л	/л			/л		
				Час п	юсле	начала и	сследог	зания					
Интактная	76± 1,2	45± 1,4	12± 1,2	13± 1,3	30± 2,1	3,07± 0,08	2,29± 0,08	4,2± 0,09	35± 1,5	75± 2,5	89± 4,1	3,11± 0,18	1,55 ± 0,13
Стресс	74± 1,4*	42± 1,3*	11± 1,3	17± 1,1*	30± 2,2	2,04± 0,07*	4,06± 0,03*	3,5± 1,1	38± 1,2*	89± 2,2*	42± 5,6 *	2,51 ± 0,22*	1,47 ± 0,15
Стресс+ НИЛИ, 5 мин	73± 1,3*	43± 1,1	12± 1,5	16± 1,3*	29± 1,8	2,10± 0,07*	3,99± 0,05*	3,9± 1,0	37± 1,2	86± 2,0*	56± 4,4 *	2,62 ± 0,17*	1,45 ± 0,14
Стресс+ НИЛИ, 15 мин	71± 1,9* **	43± 1,7	12± 1,7	16± 1,1*	29± 2,3	2,07± 0,09*	4,09± 0,04*	3,7± 1,2	37± 1,7*	87± 2,1*	70± 5,7 *	2,71 ± 0,11*	1,45 ± 0,12
			Перв	ые су	тки п	осле нач	ала исс	ледова	ния				
Интактная	77± 1,6	47± 1,4	9± 1,7	10± 1,3	34± 2,4	3,07± 0,08	2,29± 0,08	4,2± 0,09	30± 1,7	74± 2,3	90± 4,4	3,03 ± 0,25	1,59 ± 0,17
Стресс	70± 1,6*	42± 1,1*	10± 1,4	16± 1,7*	32± 2,6	2,11± 0,05*	4,12± 0,07*	3,6± 1,9	37± 1,6*	83± 2,3*	52± 5,7 *	2,56 ± 0,13*	1,56 ± 0,25
Стресс+ НИЛИ, 5 мин	75± 1,3 **	46± 1,2 **	9± 1,6	11± 1,2	34± 2,0	2,56± 0,07* **	3,22± 0,10* **	3,8± 1,6*	34± 1,5*	82± 3,0*	76± 5,0* **	2,90 ± 0,21	1,58 ± 0,20
Стресс+ НИЛИ, 15 мин	74± 1,9 **	45± 1,6 **	10± 1,5	10± 1,7	35± 2,2	2,72± 0,08* **	3,07± 0,11* **	3,9± 1,7	35± 1,3*	84± 3,3*	82± 5,4 **	2,86 ± 0,11	1,92 ± 0,27
			Седы	мые с	утки	после на	чала ис	следов	ания				1
Интактная	78± 1,6	45± 1,4	9± 1,6		33± 2,9	3,08± 0,02	2,52± 0,08	4,2± 0,09	30± 1,2	74± 2,3	89± 4,3	3,06 ± 0,21	1,82 ± 0,21
Стресс	74± 1,4*	38± 2,4*	10± 1,4	12± 1,4	30± 2,1	3,13± 0,07	2,94± 0,06*	4,6± 1,7	32± 1,5	78± 4,7	87± 4,7	2,88 ± 0,14	1,51 ± 0,19
Стресс+ НИЛИ, 5 мин	76± 1,6	44± 1,8**	10 ±1,0	13± 1,5	33± 1,6	3,10± 0,04	2,55± 0,10 **	4,4± 1,8	32± 1,5	74± 3,2	87± 4,3	2,99 ± 0,20	1,64 ± 0,18
Стресс+ НИЛИ, 15 мин	77± 1,3 **	44± 1,6**	10 ±1,8	12± 1,9	34± 2,6	3,16± 0,06	2,47± 0,15 **	4,9± 1,1	33± 1,7	75± 3,4	86± 4,4	2,95 ± 0,16	1,84 ± 0,16

Примечание: среднее \pm SEM, «*» — статистически значимые различия относительно значений интактной группы, р \leq 0,05; «**» —статистически значимые различия относительно значений стрессированной группы, р \leq 0,05.

Сниженный уровень холестерола в крови у животных в состоянии технологического стресса связан со снижением уровня метаболизма, уменьшением железистой ткани в вымени, также снижение содержания холестерола происходит при мобилизации липидов как источников энергии, компенсируя напряженность других видов обмена (Авылов, 2000).

Кальций-фософорный обмен играет важную роль в молокообразовании, влияет на воспроизводительные способности, является показателем здоровья животных. Снижение кальция так же регистрировалось через час — первые сутки после технологического стресса.

Аминотрансферазы, так же были снижены на первый час — первые сутки после технологического стресса. Ферменты АЛТ и АСТ внутриклеточные, участвуют в метаболических процессах в каждой клетке организма. Повышенный уровень в крови аминотрансфераз - маркер патологических процессов, характеризует разрушение клеток и некроз тканей.

При использовании НИЛИ исследуемые показатели возвращались к уровню значений интактной группы в течение первого часа — первых суток после технологического стресса. Полученные данные свидетельствуют о нормализации обмена веществ при действии НИЛИ и увеличении естественной резистентности (Белов и соавт., 2020; Дерюгина и соавт., 2021).

Гормон коры надпочечников, кортизол оказывает влияние на все виды обмена веществ. Регуляцию выработки кортизола осуществляет адренокортикотропный гормон (АКТГ) в ответ на увеличение содержания адреналина, поэтому даже небольшое увеличение секреции АКТГ будет влиять на функциональную активность надпочечников и оказывать влияние на физиологическое состояние организма (Еременко и соавт., 2019). Было установлено, что стресс-реакция проявляется резким увеличением уровня кортизола в крови животных, максимальное значение содержания кортизола в крови отмечено в первые сутки (табл. 18).

Таблица 18. Уровень кортизола (нмоль/л) в крови коров

Показатель	Интактные	Стресс	Стресс+ НИЛИ 5 мин	Стресс+ НИЛИ 15 мин
До начала эксперимента	18,55±2,34	18,25±2,86	16,38±3,74	19,21±1,97
1 сутки	16,36±2,43	42,17±4,55*	43,54±3,19*	38,24±4,18*
3 сутки	17,44±1,78	32,20±2,06*	36,18±4,27*	26,25±4,11*
7 сутки	17,38±2,89	18,43±1,69	18,47±2,74	20,41±4,21

Примечание: среднее \pm SEM, «*» — статистически значимые различия относительно значений до стресса, р \le 0,05.

Следовательно первые сутки - наиболее критические в развитии патологических процесса при технологическом стрессе у коров.

Таблица 19. Содержание малонового диальдегида (нМоль/мл) и восстановленного глутатиона (нМоль/мл) в крови коров

Группы животных	Этапы исследования							
	час	сутки	7 сутки					
МДА в эритроцитах, (нМоль/мл)								
Интактные	5,91±0,023*	$6,27 \pm 0,01$	$6,45 \pm 0,11$					
Стресс	7,82±0,021*	7,98 ± 0,03*	$7,07 \pm 0,01*$					
Стресс+НИЛИ 5 мин	6,82±0,025*	6,62 ± 0,06* **	$5,35 \pm 1,78$					
Стресс+НИЛИ 15 мин	6,34±0,026*	7,19 ± 0,19* **	$5,96 \pm 0,21$					
	Восстанова	пенный GSH, (нмо.	ль/мл)					
Интактные	18,1±1,83	17,3±1,64	18,4±1,65					
Стресс	15,4±1,35*	14,7±2,03*	17,2±1,74					
Стресс+НИЛИ 5 мин	16,2±1,54*	16,3±1,38* **	18,7±1,28					
Стресс+НИЛИ 15 мин	13,8±1,72* **	15,7±2,04* **	17,7±1,64					

Примечание: среднее \pm SEM, «*» — статистически значимые различия относительно значений интактной группы, р \le 0,05; «**» —статистически значимые различия относительно значений стрессированной группы, р \le 0,05.

Технологический стресс отразился и на работе антиоксидантной системы организма коров. Обнаружено снижение уровня восстановленного глутатиона и значительное увеличение в крови коров МДА (табл. 19).

К седьмым сутками после технологического стресса отмечено восстановление уровня кортизола до показателей интактной группы. Применение НИЛИ для коррекции технологического стресса и профилактики негативных последствий положительно отражается на уровне кортизола, что способствует нормализации показателей свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты (табл. 18, 19).

Таким образом, физиолого-биохимические показатели крови подтверждают адаптирующее действие НИЛИ в данном диапазоне воздействия к действию технологического стресса организма коров. При проведении мероприятий для профилактике и устранению последствий технологического стресса у коров необходимо учитывать это обстоятельство, и оптимизировать существующие схемы и методики.

3.4.1. Молочная продуктивность коров при стрессе и воздействии низкоинтенсивным лазерным излучением

Черно-пестрая голштинизированная порода коров сочетает в себе высокую продуктивность, значительную стресс-чувствительность и низкую резистентность организма (Мохов, 2003; Ткачева, 2010; Вторый и соавт., 2017; Коновалов, 2018).

Эффективность метаболизма протекания лактирующих коров молочного направления определяется молочной продуктивностью. Уровень удоя как один из важных показателей уровня эффективности разведения молочного учитывается период активной интенсификации скота В производственных процессов в животноводческих предприятиях, которая приводит к снижению стрессоустойчивости животных и, как следствие, снижению продуктивности (Донник, 2021). В ходе проведения работы была изучена молочная продуктивность, качество интенсивность молока,

свободнорадикального окисления липидов молока у коров черно-пестрой голштинизированной породы 2-й лактации (2 недели после отела) в животноводческом комплексе на 30-й день эксперимента.

Органолептические показатели исследуемого молока соответствовали техническому регламенту на молоко и молочную продукцию: массовая доля жира - 2.8 - 6.0%; массовая доля белка - не менее 2.8%,

Использование НИЛИ способствовало повышению среднесуточного удоя на 15,89% (p<0,05). В группе животных, после технологического стресса, достоверных отличий в данном показателе не выявлено (табл. 20).

Таблица 20. Изменение молочной продуктивности и качества молока при стрессе и воздействии НИЛИ

Группа животных	Молочная продуктивность, кг					
	до опыта	после опыта				
Интактные	44,9±2,20	43,9±1,15				
Стрессированые	30,1±2,17	32,3±2,13				
Стрессированные+НИЛИ 5 мин.	39,32±2,12	42,36±1,17*				
Стрессированные+НИЛИ 15 мин.	37,32±2,25	43,25±1,19*				
Массовая доля жира, %						
Интактные	5,13±0,56	5,48±0,49				
Стрессированые	4,47±0,7	4,52±0,70				
Стрессированные+НИЛИ 5 мин.	4,36±0,39	5,23±0,42				
Стрессированные+НИЛИ 15 мин.	5,66±0,49	5,77±0,53				
Массовая доля белка, %						
Интактные	3,20±0,08	3,73±0,18				
Стрессированые	2,82±0,18	3,06±0,24				
Стрессированные+НИЛИ 5 мин.	2,77±0,14	3,78±0,13*				
Стрессированные+НИЛИ 15 мин.	2,93±0,05	3,18±0,16*				
Массовая доля лактозы, %						
Интактные	5,36±0,08	5,35±0,16				
Стрессированые	5,14±0,02	5,19±0,01				
Стрессированные+НИЛИ 5 мин.	5,17±0,16	5,28±0,13*				
Стрессированные+НИЛИ 15 мин.	5,14±0,11	5,32±0,17*				

Примечание: среднее \pm SEM, «*» – статистически значимые различия относительно значений до воздействия НИЛИ, $p \le 0.05$.

Установлено положительное влияние НИЛИ на белковомолочность. Отмечено повышение содержания массовой доли белка при воздействии НИЛИ на 8,53% (p<0,05). После воздействия НИЛИ увеличилась на 3,5% (p<0,05) и массовая доля лактозы. По содержанию жира у животных опытных групп достоверных различий по изучаемому показателю молока не установлено.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено усиление активности метаболических процессов при использовании НИЛИ в условиях промышленного комплекса, что подтверждается увеличением среднесуточного прироста молока и улучшением его качества. Доказано проявление отдаленных эффектов действия НИЛИ, что реализовывалось в повышении молочной продуктивности через месяц после воздействия.

Обсуждая полученные эффекты действия НИЛИ при технологическом стрессе необходимо учитывать влияние НИЛИ на нейроэндокринные процессы. Известно, что в развитии реакции стресса и процессов адаптации ведущая роль принадлежит гипотоламо-гипофизарно-кортикоидной, симпатоадреналовой и оксидантно-антиоксидантной системам организма. При стрессовых усиливается адренокортикотропная функция состояниях гипофиза снижается, гонадотропная (Патюков 2015). Лактационная доминанта подавляется, прекращается секреция окситоцина, пролактина, развивается угнетение синтетических процессов образования компонентов молока, блокируется процесс фильтрации низкомолекулярных компонентов молока из плазмы крови.

Воздействие НИЛИ способствует повышению адаптации организма, что связанно с комплексным влиянием НИЛИ. Эффективность НИЛИ, нейропептидов, объясняется увеличением секреции гормонов И гипофиза, определяющих активность опосредованно усиливающих энергетический обмен, мобилизующих адаптационные возможности, повышающих резистентность организма экстремальным условиям.

Доказано, что кортикостероиды при стрессе активируют обмен веществ, повышают тонус сердечно-сосудистой, дыхательной и мышечной систем, что способствует повышению сопротивления организма неблагоприятным факторам среды (Данилкина, 2015). Стресслимитирующий эффект НИЛИ и с антиоксидантным эффектом лазерного излучения. тесно связан Антиоксидантное действие НИЛИ обеспечивает защиту биологически активных веществ - гормонов, простагландинов, витаминов от перекисного окисления, увеличивают эффективность гормонального звена. биологических мембран нервных тканей от перекисного окисления липидов при действии НИЛИ нормализует функционирование нейроэндокринного механизма управления лактацией.

Результаты данного раздела диссертации отражены в публикациях: Белов А.А., Иващенко М.Н., Дерюгина А.В. Биохимические показатели крови высокопродуктивных коров при технологическом стрессе // В сборнике: Инициативы молодых - науке и производству. Сборник статей Всероссийской научно-практической конференции для молодых ученых и студентов. Пенза, 2020. - С. 17-20; Дерюгина А.В., Иващенко М.Н., Белов А.А. Метаболические показатели крови коров в условиях индустриальной технологии // В сборнике: Государство. Бизнес. Общество.. Санкт-Петербург, 2021. - С. 99-101.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Скотоводство — одна из стратегически важных отраслей сельского хозяйства. Чтобы удовлетворить потребности населения в молочных продуктах и не зависеть от импорта, необходимо увеличить молочную продуктивность крупного рогатого скота. Интенсивные технологии содержания, кормления крупного рогатого скота молочного направления предполагает воздействие на организм коров большого количества факторов внешней среды, способствующих развитию у животных технологического стресса (Мысик, 2015; Сударев, 2016).

Среди стрессоров, действующих в животноводстве, выделяют неизбежные, обусловленные технологией эксплуатации коров. Возникающий в этих условиях технологический стресс оказывает отрицательное воздействие на физиологическое состояние, интенсивность метаболизма и на здоровье крупного рогатого скота и молочную продуктивность (Ермакова, 2017).

сопровождается морфофункциональными Стресс изменениями форменных элементов крови, в первую очередь эритроцитов. Изменения морфологических и функциональных свойств эритроцитов приводят к нарушению газообмена, изменению рН крови и как следствие, изменению обмена веществ у животных. Исследование функциональных, структурных и биохимических свойств эритроцитов при стрессе у животных позволят выявить, как реагируют клетки, ответственные в первую очередь за газообмен в организме и, на долю которых приходится основная доля клеточных элементов крови, на изменения обмена веществ, происходящие при стрессе. Восстановление или сохранение популяции функциональных эритроцитов поможет решить не только проблему, связанную с газообменом, но и восстановить метаболизм, нарушенный при стрессе. В связи с этим, способов морфологических, поиск коррекции функциональных ультраструктурных изменений эритроцитов является важной и актуальной проблемой биологической науки (Кленова и соавт., 2009; Мороз и соавт.,

2010).

Проведенное в работе исследование действия НИЛИ в экспериментах *in vitro* и *in vivo* показало эффективность влияния НИЛИ при коррекции технологического стресса и выявило ряд принципиальных механизмов действия НИЛИ на уровне клеток и организма в целом.

В ходе исследования *in vivo* и *in vitro* были изучены эффекты НИЛИ на показатели эритроцитов коров и доказано, что действие НИЛИ в значительной степени зависят от состояния клеток.

В частности, анализ морфологического и функционального состояния эритроцитов показал, что в ответ на технологический стресс в эритроцитах нарушается метаболизм, ионный гомеостаз, уменьшается заряд эритроцитов, и, как следствие, увеличивается количество морфологически измененных форм клеток. Увеличивается концентрация 2,3 ДФГ, что уменьшает выход АТФ в гликолизе. Выявленные нарушения метаболизма в эритроцитах приводят к ускорению процессов дестабилизации мембраны и развитию ПОЛ. Отмеченные изменения формы эритроцитов являются основой для развития гипоксии в организме коров. Помимо этого, уменьшение сродства гемоглобина к кислороду будет сопровождаться потерей кислорода в более крупных сосудах еще до входа эритроцитов в капилляры. Оптимизация обменных процессов, регуляция ионной проницаемости эритроцитов может способствовать замедлению развития дезинтеграции мембран и нарушению функциональной активности клеток.

Как показали исследования, действие НИЛИ на эритроциты способствовало увеличению отрицательного заряда клеток, снижению окислительных процессов, повышению их энергетического потенциала, восстановлению морфоструктурных показателей, что позволяет предположить наличие регуляторных свойств у НИЛИ и указывает на запуск адаптационных процессов в клетке при действии лазерного излучения.

Одним из объяснений механизма регуляторного действия НИЛИ может быть гипотеза о структурной альтерации биожидкостей, согласно которой

эффект НИЛИ в инфракрасной области (830 нм) связан с повышением колебательной энергии отдельных областей воды, способствует ЧТО конформационным перестройкам в других молекулах (Владимиров и соавт., 1994). Еще одним аспектом эффекта НИЛИ с исследованной длиной волны является воздействие на кислород, с образованием короткоживущего синглетного кислорода, который может изменять активность ферментов соавт., антиоксидантной системы эритроцитов (Владимиров 1994). Модификация структурных компонентов клетки при действии НИЛИ позволяет предположить что первичными акцепторами могут быть и ферменты. Для ферментативного катализа важнейшее значение имеют электронно-конформационные взаимодействия активных лигандами. Изменение пространственной структуры активных центров влияет на каталитическую активность и скорость метаболических процессов в эритроцитах. Таким образом, восприимчивость эритроцитов к НИЛИ с длиной волны 830 нм, вероятно, обусловлена наличием совокупности специфических и неспецифических фотоакцепторов, которые поглощают энергию излучения и обеспечивают ее трансформацию в биофизических и биохимических процессах. При специфичность ЭТОМ конечного фотобиологического ответа определяется не на уровне первичных реакций, а на основе вторичных клеточных сигнальных каскадов (Karu, 2005).

В связи с этим, дальнейшее исследование было направлено на изучение вклада различных структур эритроцитов в реализации действия НИЛИ при реализации стресс-реакции. Для этого было проведено исследование действия основных стресс реализующих гормонов - адреналина и кортизола, в реализации эффектов НИЛИ. При инкубации эритроцитов с адреналином, отмечено увеличение фазовых показателей клеток, увеличение количества дегенеративно измененных клеток, активация окислительных процессов, снижение поверхностного заряда и ионного гомеостаза. Напротив, при действии кортизола регистрировалось уменьшение фазовой высоты и диаметра клеток, на поверхности клеток появлялись многочисленные

мезополосы, поверхность дискоцитов была неровной с выпуклостями, регистрировалось повышение электрического заряда клеток, снижение окислительных процессов.

Использование НИЛИ на фоне инкубации эритроцитов с адреналином и кортизолом сохраняло направленность выявленных при моновоздействии процессов, а количественные характеристики были более выражены. Таким образом, интенсивность метаболических процессов в эритроцитах является важным фактором, влияющим на их восприимчивость к действию НИЛИ. Данный факт является важным результатом исследования, имеет практическое значение для использования НИЛИ в животноводстве и ветеринарии.

С целью выявления роли липидов эритроцитов при действии НИЛИ в следующей серии применяли глутаровый альдегид, иммобилизующий белки эритроцитарной мембраны за счет образования сшивок между NH₂-группами белков и значительно ограничивающий структурную лабильность белковых молекул. В ходе проведенных исследований было установлено сохранение фазовой высоты эритроцитов и увеличение их фазового увеличение поверхностного заряда, усиление окислительных процессов, углубление центра клетки с появлением различных выростов на поверхности **Действие** НИЛИ на фоне глутаровой фиксации сохранило направленность изменений в эритроцитах, что выражалось в сниженной концентрации МДА относительно значений интактной группы, Выявленные изменения доказывают возможность реализации эффектов НИЛИ через липидный компонент эритроцитов, однако, более слабая выраженность полученных эффектов по сравнению с действием НИЛИ на эритроциты стрессированных животных позволяет предположить вклад белков реализации действия НИЛИ.

На следующем этапе были проведены исследования с целью изучения степени участия адренорецепторов в реализации эффектов НИЛИ. Было показано, что блокада адренорецепторов снижала фазовые характеристики

эритроцитов, в большей степени при действии β-блокатора адренорецепторов, что сочеталось со снижением МДА, 2,3 ДФГ и ростом АТФ и ЭФПЭ в большей степени для β-блокатора адренорецепторов.

Воздействие НИЛИ на фоне блокаторов адренорецепторов регистрировалось снижение фазовой высоты и фазового диаметра при увеличении поверхностного заряда клетки, активации метаболических процессов и снижении концентрации МДА в эритроцитах по сравнению с моновоздействием в большей степени выраженного на фоне β-блокатора адренорецепторов. Так же при воздействии НИЛИ на фоне α- и β-адреноблокаторов снижалась выраженность эхиноцитарно-стомацитарной трансформации эритроцитов.

Обсуждая эффекты НИЛИ в серии с блокаторами адренорецепторов, можно предположить, что НИЛИ определяет эффекты, связанные с действием фосфолипазы С, кальмодулина, протеинкиназы С, активацией аденалатциклазы (рис. 10).

Действие на адренорецепторы и активация фосфолипазы С приводит к образованию вторичных мессенджеров: диацилглицерола и инозитолтрифосфата (И Φ_3), под влиянием которого открываются И Φ_3 -зависимые Ca^{2+} -каналы, что повышает вход Ca^{2+} в эритроцит и компенсаторно увеличивает выход K^+ через Ca^{2+} -зависимые калиевые каналы, которые усиливают отток калия из клетки и приводят к уменьшению клеточного объема. Показано, что однократное воздействие НИЛИ 830 нм на клетки увеличивает концентрацию внутриклеточного кальция (Coombe, 2001).

Увеличение концентрации Ca^{2+} в эритроцитах способствует активации кальмодулина. Комплекс « Ca^{2+} -кальмодулин» активирует Ca^{2+} кальмодулинзависимую протеинкиназу, которая фосфорилирует белки цитоскелета.

Активация протеинкиназы С под влиянием образовавшегося ранее диацилглицерола и повышенного содержания ${\rm Ca}^{2^+}$ в эритроците, приводит к

тем же последствиям, что и активация Ca^{2+} -кальмодулин-зависимой протеинкиназы.

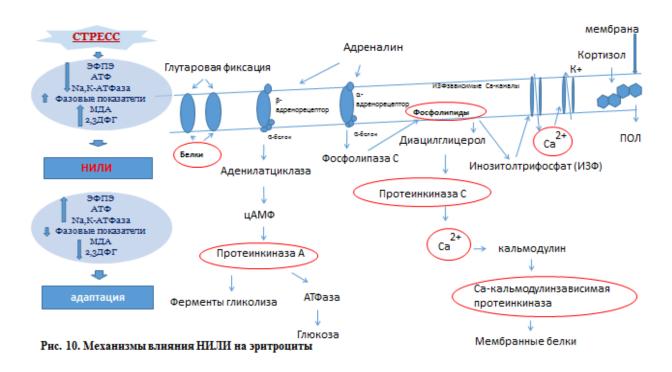


Рис. 10. Сигнальные пути, участвующие в реализации действия НИЛИ на эритроциты коров

Активация аденилатциклазы, способствует образованию цАМФ и стимуляции цАМФ-зависимой протеинкиназы, которая катализирует активацию ферментов гликолиза и АТФаз. АТФ, образующаяся в гликолизе, обеспечивает работу Na^+/K^+ -АТФ-азы, активность самого процесса, поддержание активности в гексокиназы и фосфофруктокиназы.

Увеличение количества АТФ в эритроцитах обеспечивает активацию мембранных белков - спектрина, анкирина, белка полосы 4.1 и уменьшает белок-белковые взаимодействия (Mattecci et al., 1992).

Активация ферментов протеинкиназ, фосфорилирование белков цитоскелета повышает деформабильность мембран и способствует максимальному переносу кислорода тканям (Катюхин, 1995; Wojcicki, 1993).

Таким образом, исследования in vivo и in vitro показали, что

использование НИЛИ может вызвать активацию метаболических процессов и улучшение электрокинетических показателей эритроцитов, проявление которых во многом определяется различными путями воздействия НИЛИ, что, по всей видимости, может повышать надежность и эффективность действия НИЛИ в условиях целостного организма.

На данном этапе исследований, также была доказана эффективность метода лазерной интерференционной микроскопии для анализа состояния эритроцитов. Установлено, что изменения фазового портрета эритроцитов является результатом изменения не только морфометрических характеристик клеток, но и отражает состояние внутриклеточных метаболических процессов. Так, рост фазовой высоты наблюдался при окислительном стрессе на фоне метаболического истощения клеток И показал высокую корреляционную зависимость от концентрации МДА. Рост фазового диаметра также сопровождался увеличением окислительных процессов, но в большей степени зависело от снижения уровня АТФ и роста содержания 2,3 ДФГ в эритроцитах.

Подтвержденная реализация действия НИЛИ через различные эффективность механизмы, повышает его использования при индустриальной технологии содержания животных. В результате проведенных экспериментов у высокопродуктивных коров черно-пестрой породы при технологическом стрессе установлены изменения метаболизма и снижение молочной продуктивности. При действии НИЛИ на организм коров выявлено раннее И плавное восстановление гематологических показателей воздействии НИЛИ биохимических при на фоне стресса, сочетающееся с уменьшением проявления технологического окислительного стресса при действии НИЛИ по сравнению с более выраженными в количественном и временном проявлении исследуемых показателей при технологическом стрессе.

По всей видимости, при рассмотрении выявленных эффектов НИЛИ необходимо рассматривать фотобиомодуляцию НИЛИ, которая представляет

собой модуляцию лазерным излучением функций биосистемы. Показано, что НИЛИ модулирует функции организма, ограничивая стресс (Derkacz, 2010).

Известно, что при стрессе в качестве начального этапа, дающего целый каскад процессов, выступает тканевая гипоксия, одной из причин которой может быть сосудистый спазм, вызванный активацией симпатической нервной системы и увеличением концентрации катехоламинов в крови. Выявленная в нашем исследовании, нормализации морфологических и метаболических показателей эритроцитов приводит к улучшению вязкости крови. Известно, что вязкость крови зависит от свойств эритроцитов адгезии, агрегации и деформируемости. Деформируемость влияние на кровоток в крупных кровеносных сосудах и существенно влияет на микроциркуляторный кровоток, когда эритроциты вынуждены проходить через кровеносные сосуды с диаметрами, которые меньше их размеров. В результате достигается оптимизация органной перфузии и увеличение количества доступного О2. Интенсификация кровообращения на уровне микроциркуляторного русла, увеличение зоны доставки кислорода, активизирует аэробные метаболические процессы реализует И антигипоксический эффект НИЛИ. В результате уменьшается интенсивности проявление самой стресс-реакции. На фоне более умеренной реакции уменьшается и гормональный ответ. По сути реализуется отрицательная обратная связь, которая обычно используется для поддержания внутренней стабильности биосистемы, что является классической концепцией гомеостаза (рис. 11). В кровь мобилизуется меньшее количество катехоламинов и глюкокортикоидов. Необходимо учитывать, что при стрессе увеличение метаболических гормонов гонадотропных И снижение создает неблагоприятные условия ДЛЯ функционирования молочной железы. Уменьшение выработки пролактина, обеспечивающего молокообразование, приводит к снижению молочной продуктивности коров. Окситоцин усиливает действие пролактина. Антагонистом окситоцина является гормон адреналин. Антагонистическое действие адреналина препятствует проявлению

стимулирующего действия пролактина на молокообразование. Кроме этого, адреналин обеспечивает сокращение капилляров, в том числе и в молочной железе. В результате уменьшается непрерывное поступление молокоструктурных компонентов, а также ферментов, необходимых для биосинтеза молока.

Применение НИЛИ увеличило показатели молочной продуктивности вызывало увеличение относительной доли белка и лактозы в молоке крупного рогатого скота. Доказано проявление отдаленных эффектов действия НИЛИ, что реализовалось в повышении молочной продуктивности и через месяц после воздействия.

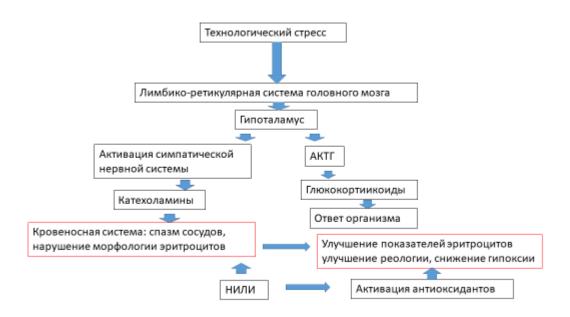


Рис 11. Схема реализации действия НИЛИ на адаптационные и продуктивные показатели коров через модификацию состояния эритроцитов с участием нейрогуморальных механизмов.

ВЫВОДЫ

- технологическом стрессе у коров регистрировалось увеличение морфологически измененных форм эритроцитов с увеличением фазового диаметра и фазовой высоты, рост концентрации МДА, 2,3 ДФГ и активности ЭФПЭ, концентрации АТФ, Na^+/K^+ относительно значений интактной группы в течение 1 суток –7 суток после технологического стресса. Действие НИЛИ 830 нм 5 и 15 мин в течение 7 суток после технологического стресса вызывало рост ЭФПЭ на всем протяжение исследования, что сопровождалось восстановлением в течение 1 часа – 1 суток фазовых характеристик эритроцитов, концентрации МДА, АТФ, активности Na^+/K^+ АТФ-аза, антиокисидантной системы и в течение 7 суток концентрации 2,3 ДФГ до значений интактной группы.
- Действие НИЛИ в экспериментах in vitro зависело от состояния клеток: НИЛИ на эритроциты коров после технологического стресса вызывало действие сопоставимое с влиянием in vivo, тогда как на эритроциты нестрессированных коров не оказывало значимого воздействия; на фоне кортизола при действии НИЛИ наблюдалось повышение адаптационных резервов клетки, тогда как при истощении эритроцитов в ходе инкубации с адреналином, действие НИЛИ было не эффективно и приводило к эритроцитов, что проявлялось в усилении дальнейшему повреждению окислительных процессов И истощении энергетических эритроцитов. Глутаровая фиксация, блокада α- и β- адренорецепторов уменьшала эффекты НИЛИ, что доказало возможность реализации НИЛИ через белки, адренорецепторы и сигнальные пути клеток.
- 3. Фазовая микроморфометрия эритроцитов в экспериментах *in vitro* и *in vivo* позволила визуализировать модификацию клеток в режиме реального времени и провести количественную оценку состояния эритроцитов при стрессе и при действии НИЛИ: выявлена высокая корреляционная зависимость фазового диаметра от концентрации АТФ и 2,3ДФГ, фазовой высоты от концентрации МДА в клетках.
- 4. Исследование гематологических, биохимических показателей крови, содержания кортизола в крови показало нивелирование действия технологического стресса у коров при использовании НИЛИ 830 нм 5 и 15 мин в течение 7 суток, что проявилось в более раннем восстановлении исследуемых показателей до значений интактной группы по сравнению с действием технологического стресса и в повышении молочной продуктивности через месяц после воздействия НИЛИ.

РЕКОМЕНДАЦИИ ПРОИЗВОДСТВУ

С целью повышения продуктивности и устойчивости крупного рогатого скота наряду с традиционными зооветеринарными приемами рекомендуется при технологическом стрессе коров использовать низкоинтенсивное лазерное излучение с длиной волны 830 нм 5 или 15 минут в течение 7 дней в области уха животных.

СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Абилов, А.И. Влияние теплового стресса на воспроизводительную способность голштинизированных молочных коров ч/п породы / А.И. Абилов, Н.В. Жаворонкова, Ш.Н. Насибов, С.Ф. Абилова // Современные тенденции развития науки и технологий. 2015. №2-1. С. 108—115.
- 2. Абитов, А.М. Влияние технологических факторов на стрессоустойчивость и проявление продуктивных качеств крупного рогатого скота / А.М. Абитов, М.А. Атаев, М.Б. Улимбашев // Животноводство и кормопроизводство. 2018. №2. С. 90-96.
- 3. Авылов, Ч. Стресс-факторы и резистентность животных / Ч. Авылов // Животноводство России. 2000. № 11. С. 20-21.
- 4. Ажмулдинов, Е.А. Способ сокращения потерь продукции молодняка крупного рогатого скота при технологических стрессах / Е.А. Ажмулдинов, М.Г. Титов, И.А. Бабичева, Ф.Х. Сиразетдинов // Вестник мясного скотоводства. − 2017. − № 4(100). − С. 104-110;
- 5. Амиров, Д.Р. Клиническая гематология животных / Амиров Д.Р., Тамимдаров Б.Ф., Шагеева А.Р. Казань: Центр информационных технологий КГАВМ, 2020. 134 с.
- 6. Атауллаханов, Ф.И. Регуляция объема эритроцитов человека. Роль калиевых каналов, активируемых кальцием / Ф.И. Атауллаханов, В.М. Витвицкий, А.Б. Кияткин, А.В. Пичугин // Биофизика. –1993. –Т. 38(5). –С.809–821.
- 7. Афанасьев, М.А. Разработка приема повышения продуктивности, резистентности молодняка овец на основе биофизических методов: дис. ... к.с.-х.наук: 06.02.01 / Афанасьев Михаил Анатольевич. Ставрополь, 2020.- 138 с.
- 8. Байбеков, И.М. Эритроциты в норме, патологии и при лазерных воздействиях / Байбеков И.М., Мавлян-Ходжаев Р.Ш., Эрстекис А.Г., Москвин С.В. Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2008. 256 с.
- 9. Балковой, И. И. Лазерная терапия в ветеринарной акушерской практике / И. И. Балковой, В. П. Иноземцев // Ветеринария. 1998. №2.1. С. 33-34
- 10.Бархина, Т.Г. Патология мембран форменных элементов крови при заболеваниях и в эксперименте/ Т.Г. Бархина// Успехи современного естествознания. 2006. № 6. С. 64-65.
- 11. Башук, В.В. Морфологические и морфофункциональные свойства эритроцитов в группе практически здоровых людей / В.В. Башук, Т.В. Павлова, К.И. Прощаев, М.А. Чаплыгина, А.В. Селиванова, И.С. Сырцева // Фундаментальные исследования. 2014. №4-2. С. 242-245.
- 12. Белов, А.А. Биохимические показатели крови высокопродуктивных коров при технологическом стрессе /А.А. Белов, М.Н. Иващенко, А.В. Дерюгина // В сборнике: Инициативы молодых науке и производству.

- Сборник статей Всероссийской научно-практической конференции для молодых ученых и студентов. Пенза, 2020. С. 17-20
- 13. Бурдов, Г.Н. Низкоинтенсивный лазер при гинекологических заболеваниях свиней. / Г.Н. Бурдов, В.В. Бочкарева, В.В. Власов, Е.И. Кузнецова, В.В. Бауков. // Ветеринария. − 2001. − № 12. − С. 35.
- 14. Бусловская, Л.К. Адаптационные реакции у коров при технологических операциях /Л.К. Буславская, А.Ю. Ковтуненко, Ю.П. Рыжкова //Актуальные вопросы сельскохозяйственной биологии. 2019. —№2 (12). С. 3-9.
- 15. Боев, В.М. Влияние окислительного стресса на распространенность гиперхолестеринемий в условиях промышленного города / Боев В.М. // Гигиена и санитария. − 2007. − №1. − С. 21–25.
- 16. Бойтлер, Э. Нарушение метаболизма эритроцитов и гемолитическая анемия / Э. Бойтлер. Пер с англ. М.: Медицина, 1981. 256 с.
- 17. Боровская, М.К. Структурно-функциональная характеристика мембран эритроцита и ее изменения при патологиях разного генеза / М.К. Боровская, Э.Э. Кузнецова, В.Г. Горохова, Л.Б. Корякина // Бюлл. НЦРВХ СО РАМН. 2010. №3 (73). С. 334–354.
- 18. Боронихина, Т.В. Плазмолемма эритроцитов и ее изменения в течение жизни клеток / Т.В. Боронихина, Т.А. Ломановская, А.Н. Яцковский // Журнал анатомии и гистопатологии. 2021. №10(2). С. 62 72.
- 19. Браже, А.Р. Исследование клеточной динамики с помощью интерференционной микроскопии с применением вейвлет-анализа / А.Р. Браже, Н.А. Браже, О.В. Сосновцева, А.Н. Павлов, Э. Мозекильде, Г.В. Максимов // Компьютерные исследования и моделирование. 2009. Т.1, №1. С. 77—83.
- 20. Брилль, Г.Е. Изменение содержания депроидизированной ДНК и уровня РНК в клетках лимфоидных органов при облучении животных инфракрасным лазером / Г.Е. Брилль, И.О. Бугаева // Лазерная медицина. 2005.— Т.9, вып. 3. С.48-52.
- 21. Брилль, Г.Е. Новые данные об изменении структуры биожидкостей под влиянием низкоинтенсивного лазерного излучения/ Г.Е. Брилль, В.И. Петросян, Э.А. Житнева // Физическая медицина. 1996. Т. 5, №12. С. 39—40.
- 22. Брук, Т.М. Влияние лазерного излучения на организм при предельно допустимой физической нагрузке в условиях экспериментальной эндокринной патологии : дис. ... д-ра биол. наук : 14.00.16 / Брук Татьяна Михайловна. М., 1999. 234 с.
- 23. Брук, Т.М. Динамика бета-эндорфина в крови спортсменов различной квалификации в условиях нагрузки умеренной интенсивности на фоне низкоинтенсивного лазерного воздействия / Т.М. Брук, М.В. Лифке // Человек и его здоровье. 2009. №2. С. 5-10.
- 24. Будаговский, А.В. Лазерные технологии в сельском хозяйстве / А.В. Будаговский, И.Б. Ковш. М.: Техносфера, 2008. 272 с.
- 25. Ващенко, В.И. Эриптоз (квазиапоптоз) эритроцитов человека и его роль

- в лекарственной терапии / В.И. Ващенко, В.Н. Вильянинов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2019. №17 (3). С. 5-38.
- 26.Веремей, Э.И. Клинические показатели миозита у лошадей после воздействия низкоинтесивного лазера / Э.И. Веремей, Н.А. Борисов // Программа и тез. докл. Междунар. конф. / Институт физики им. Б.И. Степанова Национальной академии наук Беларуси. Минск, 2002. С. 64.
- 27.Вершинин, В.А. Хозяйственно-биологические особенности и мясные качества бычков казахской белоголовой породы разных генотипов: автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. с.-х. наук / В.А. Вершинин. Волгоград, 2001. 22 с.
- 28.Виноградова, И.Л. Метод одновременного определения 2,3 ДФГ и АТФ в эритроцитах / И.Л. Виноградова, С.Ю. Багрянцева, Г.В. Дервиз // Лабораторное дело. 1980. №7. С. 424 426.
- 29.Владимиров Ю.А. Три гипотезы о механизме действия красного (лазерного) света // Эфферентная медицина. 1994. С. 23-25.
- 30.Владимиров, Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах / Ю.А. Владимиров //Соросовский образовательный журнал. 2000. Т.6, №12. С.13-19.
- 31.Волчков, А.И. Стресс, функциональное состояние и прогнозирование продуктивности крупного рогатого скота [Текст]: автореф. дис. ... канд. биол. наук / А.И. Волчков. Орел, 2000. 22 с.
- 32.Вторый, В.Ф. Микроклимат коровника на 200 голов в зимний период / В.Ф. Вторый, С.В. Вторый, В.В. Гордеев, Е.О. Ланцова // Вестник Всероссийского научно-исследовательского института механизации животноводства. 2017. № 4(28). –С. 99-103
- 33. Гаврикова, Е.И. Разработка путей повышения эффективности применения эфирных масел в качестве адаптогенов в молочном животноводстве: специальность 03.01.04 "Биохимия": диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Е.И. Гаврикова. Боровск, 2017. 299 с.
- 34. Гейниц А.В., Москвин С.А., Азизов Г.А. Внутривенное лазерное облучение крови. Тверь: Триада, 2006. С. 54.
- 35. Гизатуллина, Ф.Г. Способ коррекции процессов адаптации у коров при технологическом стрессе /Ф.Г. Гизатуллина, А.И. Кузнецов, Т.С. Самсонова, А.В. Бучель // АПК России. 2019. Т.26, №4. С. 630-636.
- 36.Голубцов, С.Н. Семёнов // Вестник Воронежского государственного аграрного университета. 2015. №3 (46) С. 58-64.
- 37. Горбатых, Е.С. Мясные качества симментал абердин-ангусских помесей / Е.С. Горбатых // Зоотехния. 2001. № 9. С. 26–27.
- 38. Горизонтов, П.Д. Стресс и система крови/ П.Д. Горизонтов, О.И. Белоусова, М.И. Федотова. М.: Медицина, 1983. 240 с.
- 39. Грига, Э.Н. Влияние импульсного низкочастотного тока на морфологические показатели крови / Э.Н. Грига, Ю.А. Карпенко, Е.А.

- Киц, О.Э. Грига, С.Е. Боженов // Сб. науч. тр. Ставропольского научноисследовательского института животноводства и кормопроизводства. — Ставрополь: СНИИЖК, 2014. — Т. 1. — No 7 (1). — С. 180-185.
- 40. Гудков, С.Н. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на биологические параметры свиноматок: дис. ... канд. биол. наук: 06.02.01; 03.00.13 / Гудков Сергей Николаевич. Новосибирск, 2005. 141 с.
- 41. Гудошников, В. И. Роль белков и гормонов стресса в биорегуляции онтогенеза / В.И. Гудошников // Проблемы эндокринологии. -2015. Т. 61. №4. С. 49–53.
- 42. Гудыменко, В.И. Молочная продуктивность и воспроизводительные качества голштинизированного чёрно-пёстрого скота / В.И. Гудыменко // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2015. №3(53). С. 129-131.
- 43.Гуськов, А.М., Попкова Т.В., Белкин Б.Л. Стрессовая реакция организма коров при дисфункции молочной железы // Научноприкладные аспекты состояния и перспективы развития животноводства и ветеринарной медицины. Курск. 2001.- С. 2-63.
- 44. Данилкина, О.П. Физиология стресса животных / О.П. Данилкина Красноярск, КрАГУ, 2016. 32 с.
- 45. Данилов, В.П. Фотодинамическое повреждение клеток в красной и ИК полосах поглощения эндогенного кислорода / В.П. Данилов, С.Д. Захаров, А.В. Иванов, Т.М. Мурина // Доклады АН СССР. –1990. Т. 311(5). С. 1255–1258.
- 46. Девятков, Н.Д. Физико-химические механизмы биологического действия лазерного излучения / Н.Д. Девятков, С.М. Зубкова, И.Б. Лапрун, Н.С. Макеева // Успехи совр. биол. 1987. Т. 103, №1. С. 31—43.
- 47. Дегтярев, Д.Ю. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на биохимический статус и продуктивность молодняка овец: дис. ... канд. биол. наук: 06.02.04 / Дегтярев Денис Юрьевич. Волгоград, 2009. 130 с.
- 48. Дедкова, А.И. Нейтрализация отъёмного стресса с помощью средств растительного и синтетического происхождения /А.И. Дедкова, С.Н. Химичева// Главный зоотехник. 2012. №4. С. 45-49.
- 49. Дерюгина, А.В. Влияние цитофлавина на окислительный стресс и активность Na/K-ATФазы эритроцитов после черепно-мозговой травмы /A.В. Дерюгина, А.В. Шумилова// Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2017. №117(11). С. 51-55.
- 50. Дерюгина, А.В. Морфология эритроцитов крупного рогатого скота в норме и при технологическом стрессе / А.В. Дерюгина, А.Г. Самоделкин, М.Н. Иващенко, Л.А. Воронина, Г.А. Скворцова // Естественные и технические науки. 2018. №12. С. 25—27.
- 51. Дерюгина, А.В. Действие низкоинтенсивного лазерного излучения на показатели красной крови интактного и альтерированного организма /

- А.В. Дерюгина, М.Н. Иващенко, П.С. Игнатьев, А.Г. Самоделкин, А.С. Корягин, М.Н. Таламанова, Г.А. Скворцова, К.Р. Сидей, А.А. Белов // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2018. No 3. С. 14-20.
- 52. Дерюгина, А.В. Электрофоретическая подвижность эритроцитов в качестве маркера адаптационных реакции организма / А.В. Дерюгина, М.А. Шабалин, Е.А. Грачева // Нижний Новгород: Издательство Нижегородского госуниверситета. 2020. 21 с.
- 53. Дерюгина, А.В. Изменение формы эритроцитов крупного рогатого скота при технологическом стрессе /А.В. Дерюгина, М.Н. Иващенко, В.А. Петров, А.А. Белов // Естественные и технические науки. − 2020. − №6 (144). − С. 86-88.
- 54. Дерюгина, А.В. Действие низкоинтенсивного лазерного излучения различных диапазонов на морфологию эритроцитов А.В. Дерюгина, М.Н. Иващенко, В.А. Петров, А.А. Белов // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2020. №8. С. 78-83.
- 55. Дерюгина, А.В. Диагностические возможности анализа эритроцитов методом лазерной интерференционной микроскопии /А.В. Дерюгина, М.Н. Иващенко, П.С. Игнатьев, А.А. Белов, В.А. Петров // Клиническая лабораторная диагностика. 2021. Т.66, №1. С. 22-25;
- 56. Дерюгина, А.В. Применение лазерной интерференционной микроскопии для оценки функционального состояния эритроцитов / А.В. Дерюгина, М.Н. Иващенко, А.А. Белов, П.С. Игнатьев, В.Б. Метелин // Цитология. 2021. Т. 63, № 1. С. 74–79.
- 57. Дерюгина, А.В. Метаболические показатели крови коров в условиях индустриальной технологии / А.В. Дерюгина, М.Н. Иващенко, А.А. Белов // В сборнике: Государство. Бизнес. Общество. Цифровая среда: траектория взаимодействия от теории к практике. Сборник научных статей по итогам международной научно-практической конференции. Санкт-Петербург, 2021. С. 99-101.
- 58. Джалабова, М.И. Антиоксиданты и окислительный стресс / М.И. Джалабова, Б.А. Ломсадзе, Е.В. Бурлакова // I Кавказ. симп. по мед.-биол. наукам. Тбилиси, 1999. С. 69.
- 59. Донник, И.М. Молочная продуктивность и стрессоустойчивость чернопестрых коров разного генотипа / И.М. Донник, О.С. Чеченихина, О.Г. Лоретц // Вестник Курганской ГСХА. 2021. №4. С. 35-40.
- 60. Доценко, О.И. Активность супероксиддисмутазы и каталазы в эритроцитах и некоторых тканях мышей в условиях низкочастотной вибрации / О.И. Доценко, В.А. Доценко, А.М. Мищенко // Физика живого. 2010. Т. 18, № 1. С. 107-113.
- 61. Евстифеев, А.И. Транспорт кислорода через мембрану эритроцитов / Евстифеев А.И., Котов Н.В. Казань: Институт Физики Казанского федерального университета, 2014. 30 с.
- 62. Емельянов, В.В. Атомно-силовая микроскопия эритроцитов и метаболические нарушения при экспериментальном сахарном диабете и его коррекции липоевой кислотой /В.В. Емельянов, Д.В. Леонтьев,

- А.В. Ищенко, Т.С. Булавинцева, Е.А. Саватеева, И.Г. Данилова// Биофизика. -2016. Т. $61, N \cdot 5.$ С. 922-926.
- 63. Еременко, В.И. Динамика кортизола в крови телочек разных пород после нагрузки на кору надпочечников адренокортикотропным гормонов /В.И. Еременко, Е.Г. Ротмистровская // Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского Биология. Химия. − 2019. − Т.5(71), № 1. − С. 23–29
- 64. Ермакова, Н.В. Сезонные стресс-факторы и их влияние на здоровье и продуктивность коров / Н.В. Ермакова // Ресурсосберегающие технологии при хранении и переработке сельскохозяйственной продукции, Орел, 26–27 июня 2014 года. Орел: Орловский государственный аграрный университет, 2014. С. 12-19.
- 65. Ермакова, Н.В. Каталитическая активность ферментов переаминирования у коров в условиях смены сезонов года / Н.В. Ермакова // Ученые записки Орловского государственного университета. 2012. №6 (часть 1). С.382-384.
- 66. Ермакова, Н.В. Изучение сезонной динамики физиологобиохимического гомеостаза крови коров в условиях технологического стресса/ Н.В. Ермакова // Аграрная наука. - 2009. - № 4. - С. 28-29.
- 67. Ермакова, Н.В. Стресс и лейкоцитарная картина крови коров // Успехи современной науки. -2017. Том 1, №6. С. 131-134.
- 68.Залесская, Г.А. Реакция периферической крови экспериментальных животных на комбинированное воздействие низкоинтенсивного лазерного излучения / Г.А. Залесская, В.М. Насек, Р.Д. Зильберман // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук. 2018. Т. 63. №2. С. 201-208.
- 69.Захаров, С.Д. Синхронные изменения в клетках и во внеклеточной среде, индуцированные низкоинтенсивным лазерным облучением / С.Д. Захаров, С.А. Скопинов, Н.А. Панасенко // Краткие сообщения по физике. − 1990. − №3. − С. 12-14.
- 70.3инчук, В.В. Деформируемость эритроцитов: физиологические аспекты / В.В. Зинчук / Успехи физиологических наук. -2001. Т. 32, №3. С. 66-78.
- 71. Ибадуллаева, С.Ж. Содержание эритроцитов при действии экстремальных факторов / С.Ж. Ибадуллаева, Н.С. Ауезова, А.Б. Карабалаева // Вестник научных конференций. 2018. -№10-4, (38). С. 51-53.
- 72. Ибишов, Д.Ф. Влияние оксидативного стресса у крупного рогатого скота на иммунную защиту / Д.Ф. Ибишов, С.В. Поносов // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2022. Т. 249, № 1. С. 75-79.
- 73.Игнатьев, П.С. Лазерная интерференционная микроскопия морфологии и динамики биологических объектов в реальном времени: диссертация ... кандидата физико-математических наук: 01.04.21 / Игнатьев Павел

- Сергеевич. Москва, 2010. 158 с.
- 74.Иноземцев, В.П. Лазерное излучение как диагностика скрытого эндометрита у коров / В.П. Иноземцев, И.И. Балковой, Я.С. Стравский // Шестая Международная научно-практическая конференция по квантовой медицине: сб. науч. тр. М., 2000. С. 239242.
- 75.Исмагилова, Э.Р. Влияние экологических факторов на организм крупного рогатого скота / Э. Р. Исмагилова // Ветеринария. 2006. №2. С. 44-47.
- 76. Кабанов, Д.С. Изменение поверхностных характеристик мембраны эритроцитов при встраивании липополисахаридов грамотрицательных бактерий: автореф. канд. биол. наук / Д.С. Кабанов// Пущино, 2006.- 24 с., 156.
- 77. Кавтарашвили, А. Проблема стресса и пути ее решения /А. Кавтарашвили, Т. Колокольникова // Животноводство России. 2010. №6. С.15-17.
- 78. Казеев, Г.В. Лазеротерапия и лазеропунктура при акушерскогинекологических заболеваниях коров. / Г.В. Казеев, И.И. Балковой, В.Н. Миронов, В.Н. Родин, В.М. Баранников, Л.Н. Кудрина. // Ветеринария. 2002.-№ 2. С. 34.
- 79. Казеев, Г.В. Биоэнергетика животных и разработка методов ее коррекции при нарушении функции воспроизводства: дис. ... д-ра с.-х. наук: 06.02.01 / Казеев Георгий Васильевич. М., 2003. 292 с.
- 80. Казеннов, А.М., Исследование активности Na, К-АТФазы в эритроцитах млекопитающих / А.М. Казеннов, М.Н. Маслова, А.Д. Шалабодов // Биохимия. 1984. Т. 49, № 7. С. 1089 1094.
- 81. Канкалова, А.В. Сокращение потерь живой массы скота при технологических стресса / Вестник науки. 2020. Т. 5. №3(24). С. 96-100.
- 82. Карамалак, А.И. Низкоинтенсивное лазерное излучение и полихроматический поляризованный свет в ветеринарной медицине (механизм действия и методики применения): учеб.-метод. пособие / А.И. Карамалак, А.Н. Козловский. Витебск, 2007. 66 с.
- 83. Картелишева, А.В. Лазерная терапия и профилактика / А.В. Картелишева // М.: Практическая медицина, 2012. 400 с.
- 84. Кару, Т.Й. О молекулярном механизме терапевтического действия излучения низкоинтенсивного лазерного света / Т.Й. Кару // Докл. АН СССР. 1986. № 291. С. 1245-1249.
- 85. Катюхин, Л.Н. Реологические свойства эритроцитов /Л.Н. Катюхин // Современные методы исследования // Росс. физиол. ж. им. И.М. Сеченова. 1995. Т.81.№6. С.122-129.
- 86. Киреев, И.В. Состояние системы антиоксидантной защиты коров в условиях технологического стресса / И.В. Киреев, В.А. Оробец // Ветеринарная патология. 2017. №2(60). С. 39-46.
- 87.Кленова, Н.А. Строение, метаболизм и функциональная активность эритроцитов человека норме и патологии / Кленова Н.А., Кленов Р.О. –

- Самара: Издательство «Самарский университет», 2009. 116 с
- 88. Ковтуненко, А.Ю. Биохимические параметры крови коров при адаптации к низким температурам / А.Ю. Ковтуненко // Современные проблемы науки и образования. 2012. №6; URL: https://science.education.ru/ru/article/view?id=7634.
- 89. Козель, А.И. Механизм действия лазерного облучения на тканевом и клеточном уровнях /А.И. Козель, Г.К. Попов // Вестник РАН. 2000. №2. С. 41 43.
- 90. Комарова, Н.К. Новые технологические методы повышения молочной продуктивности коров на основе лазерного излучения: монография / Н.К. Комарова, В.И. Косилов, Е.Ю. Исайкина. М.: Омега-Л; Оренбург: Издательский центр ОГАУ, 2015. 192 с.
- 91. Кондрахин И. П., Архипов А. В., Левченко В. И. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: справочник. М.: КолосС, 2004. 520 с.
- 92. Коновалов, А.В. Аграрная наука-основа повышения эффективности сельскохозяйственного производства / А.В. Коновалов, А.В. Ильина, М.В. Абрамова, А.А. Алексеев //Ветеринария и кормление. 2018. №2. С. 59-62.
- 93. Королюк, М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.Н. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // Лаб. дело. 1988. N 1. C. 16-19.
- 94. Короткевич, О.С. Биологический эффект воздействия ультразвука и низкоинтенсивного лазерного излучения на организм свиней: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 06.02.01; 03.00.13 / Короткевич Ольга Сергеевна. Новосибирск, 2000. 35 с.
- 95. Косорыгина, К.Ю. Оценка кумулятивного эффекта низкоинтенсивного лазерного излучения для оптимизации функционального состояния и специальной работоспособности высококвалифицированных спортсменов-велосипедистов : автореф. дис. ...канд. биол. наук : 03.03.01. / Косорыгина Кристина Юрьевна. Смоленск, 2015.— 24 с.
- 96. Костин, Д.Г. Изменение асимметрии липидов и транспорта коньюгатов глутатиона в эритроцитах человека под влиянием ионов кальция / Д.Г. Костин, Н.М. Козлова, Е.И. Слобожанина // Биофизика. 2004. Т. 49, №4. С. 685 692.
- 97. Котомина, Г.А. Анализ изменения интенсивности роста поросят под действием лазерного излучения / Г.А. Котомина, М.А. Чечушкова // Студент и научно-технический прогресс: тез. докл. XXXIX Междунар. науч. студ. конф. Новосибирск, 2001. С. 117-118.
- 98. Котомина, Г.А. Биологический эффект воздействия низкоинтенсивного лазерного излучения на область селезенки поросят: автореф. дис. ... дра биол. наук: 06.02.01; 03.00.13 / Котомина Гульнара Ахметовна. Новосибирск, 2005. 20 с.
- 99. Котомина, Г.А. Влияние лазерного излучения инфракрасного спектра на скорость роста поросят / Г.А. Котомина, О.И. Себежко // Вестник

- Новосибирского государственного аграрного университета. -2011. Т. 4. №20. С. 67-71.
- 100. Коржов, В.И. Роль системы глутатиона в процессах детоксикации и антиоксидантной защиты / В.И. Коржов, В.Н. Жадан, М.В. Коржов // Журнал АМН Украины. -2007. Т. 13, № 1. С. 3-19.
- 101. Крылов, В.Н. Содержание АТФ и 2,3ДФГ в эритроцитах при консервации и воздействии озона / В.Н. Крылов, А.В. Дерюгина, И.С. Симутис // Биомедицина. 2014. №2. С. 37-42.
- 102. Кулинский В.И. Биологическая роль глутатиона / В.И. Кулинский, Л.С. Колисниченко // Успехи современной биологии. 1990. Т.110, №1. С. 20—32.
- 103. Кулинский, В.И. Система глутатиона / В.И. Кулинский, Л.С. Колесниченко // Биомед. химия. 2009. Т. 55. Вып. 3. С. 255–277.
- 104. Курденко, А.П. Стресс у животных в условиях интенсификации и модернизации животноводства / А.П. Курденко, М.В. Богомольцева // Ученые записки УО ВГАВМ. 2017. Т. 53, №2. С. 84-88.
- 105. Курьянова, Е.В., Трясучев, А.В. Эритроциты: их реактивность и участие в регуляторных процессах: монография / Е.В. Курьянова, А.В. Трясучев Астрахань: Издатель: Сорокин Роман Васильевич, 2019, 160 с.
- 106. Кушнерова, Н.Ф. Влияние стресса на состояние липидного и углеводного обмена печени, профилактика/ Н.Ф. Кушнерова, В.Г. Спрыгин, С.Е. Фоменко // Гигиена и санитария. 2005. № 5. С. 17 21.
- 107. Ламонов, С.А. Продуктивность коров разных типов стрессоустойчивости / С.А. Ламонов, С.Ф. Погодаев // Зоотехния. $2004. N_{\odot}9. C. 26-27.$
- 108. Ламонов, С.А. Стрессоустойчивость и удой / С.А. Ламонов, С.Ф. Погодаев // Молочное скотоводство. 2005. №1. С.33.
- 109. Ламонов, С.А. Молочная продуктивность и технологические качества молока разных типов стрессоустойчивости / С.А. Ламонов, И.А. Скоркина // Вестник Мичуринского государственного аграрного университета. 2022. №1 (68). С. 87-94.
- 110. Лановенко, И.И. Взаимодействие глутатиона эритроцитов и кислородтранспортной функции крови при гемической гипоксии железодефицитного генеза / И.И. Лановенко, А.П. Гащук // Доповіді Національної академії наук України. 2012. № 12. С. 178-185.
- 111. Латюшин Я.В. Закономерности молекулярно-клеточных адаптационных процессов в системе крови при остром и хроническом гипокинетическом стрессе: автореф. дис. ... докт. биол. наук. Челябинск, 2010. 40 с.
- 112. Лившиц, В.М. Медицинский лабораторно-аналитический справочник // В.М. Лившиц, В.И. Седельникова Москва: Триада X, 2007.-312 с.
- 113. Липунова, Е.А. Система красной крови: Сравнительная

- физиология, Монография / Е. А. Липунова, М. Ю. Скоркина. Белгород: Изд-во БелГУ, 2004. 216 с.
- 114. Липунова, Е.А. К методике определения цитокинетических показателей эритроцитарного баланса крови птиц / Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Естественные науки. 2007. Т. 5, №5. С. 65-66.
- 115. Литовченко, Д.В. Влияние хотынецких природных цеолитов и липоевой кислоты на минеральный состав, антиоксидантный статус и белковый спектр сыворотки крови у высокопродуктивных коров при технологическом стрессе: автореф. дисс. ... канд. биол. наук: 03.01.04 / Дмитрий Владимирович Литовченко. Боровск, 2016. 22 с.
- 116. Любина, Е.Н. Изменение физиологических показателей организма поросят в послеотъемный период под влиянием препаратов витамина А и бета каротина / Е.Н. Любина // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. −2010. − Т. 204. −№1. − С. 140−148.
- 117. Ляпин, О.А. Сравнительная оценка влияния стресс-корректоров на сокращение потерь живой массы при предубойной подготовке бычков / О.А. Ляпин, И.Н. Меренкова, В.О. Ляпина // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2015. №3 (53). С. 192–194.
- 118. Ляпин, О.А. Особенности роста и развития бычков на фоне минимизации технологического прессинга комплексами адаптогенов / О.А. Ляпин, Р.Ш. Тайгузин, А.А. Торшков, Н.А. Гашков, В.О. Ляпина // Известия оренбургского государственного аграрного университета. 2019. №6 (80). С. 266-270.
- 119. Ляпина, В.О. Сокращение потерь мясной продукции при отъёме телят от коров и последующих стрессах в период выращивания и реализации бычков / В.О. Ляпина, О.В. Ляпин, М.З. Ибрагимов // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2013. №4. С. 243-246.
- 120. Магер, С.Н. Влияние стресс-факторов на воспроизводительную способность крупного рогатого скота / С.Н. Магер, В.А. Напримеров, П.Н. Смирнов // Вестник НГАУ. 2005. №1 (2). С.49-51.
- 121. Мажуль, В.М. Внутримолекулярная динамика и функциональная активность белков / В.М. Мажуль, Д.Г. Зайцева, Д.Г. Щербин // Биофизика. 2000. Т. 45, вып. 6. С. 965 989.
- 122. Макаримов, С.С. Опыт применения лазерной терапии при эндометрите коров. / С.С. Макаримов. // Ветеринария. 2002. № 4. С. 29.
- 123. Малофеев, В.Л. Типы стрессоустойчивости голштинизированных первотелок, их наследование и взаимосвязь с хозяйственно полезными признаками : автореф. дис. ... канд. с.-х. наук : 06.02.04 / В.Л. Малофеев. Новосибирск, 2006. 21 с.

- 124. Маслова, М.Н. Молекулярные механизмы стресса /М.Н. Маслова // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2005. Т.80, №7 С. 1320—1328.
- 125. Медведев, И.Н. Функциональные характеристики тромбоцитов и эритроцитов у крупного рогатого скота / И.Н. Медведев, Н.В. Кутафина // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2015. №8. С. 24 36.
- 126. Менабде, К.О. Тканевая специфичность пероксидного окисления липидов при эмоциональном стрессе у крыс / К.О. Менабде, Г.М. Бурджанадзе, М.В. Чачуа // Укр. біохім. Журн. 2011. Т. 83, № 3. С. 85-90.
- 127. Михайлис, А.А. Стресс-индуцированная динамика гемолитической стойкости эритроцитов при различных видах повреждающих воздействий / А.А. Михайлис // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2009. №4. С. 94-100.
- 128. Михайлов, Н.А. Микроклимат в помещении при содержании высокопродуктивных животных молочного направления / Н.А. Михайлов // Ветеринарная медицина теория, практика и обучение: материалы второй Всероссийской научно-практической конференции. Спб.: Изд-во ФГОУ ВПО СПбГАВМ, 2007. С.43-44.
- 129. Миронов, В.А. Влияние биназы на некроз и апоптоз макрофагов в модели окислительного стресса/ В.А. Миронов, А.В. Филиппов, Ф.В. Ширшиков, Г.В. Черепнев, Н.В. Калачева //Ученые записки казанского университета. 2012. Т.154, №2. С. 66-76.
- 130. Моисеева О.И. Физиологические механизмы регуляции эритропоэза / О.И. Моисеева. Л.: Наука, 1985. 183 с.
- 131. Мойсеенко, В.А. Показатель проницаемости эритроцитарных мембран в оценке функционального состояния организма /В.А. Мойсеенко, Л.И. Антоненко, Л.Л. Аршинникова, К.Ш. Арутюнова, И.В. Пасько // Крымский терапевтический журнал. 2007. Т.2, №2. С.103-107.
- 132. Молянова, Г.В. Влияние препарата Бисолби на биохимические и продуктивные показатели телят голштино-фризской породы / Г.В. Молянова, М.П. Ноготков // Известия Самарской государственной сельскохозяйственной академии. 2021. №2. С. 57-63.
- 133. Монастырев, А.М. Сокращение потерь живой массы скота при технологических стрессах / А.М. Монастырев, А.П. Онищенко // Аграрный вестник Урала. 2017. №4 (40). С. 21-22.
- 134. Мороз, В.В. Изменения ультраструктуры поверхности мембран эритроцитов после кровопотери и их коррекция лазерным облучением / В.В. Мороз, А.К. Кирсанова, И.С. Новодержкина // Общая реаниматология. 2010. VI (2). С. 5—9.
- 135. Мороз, В.В. Строение и функция эритроцита в норме и при критических со-стояниях / В.В. Мороз, А.М. Голубев, А.В. Афанасьев, А.Н. Кузовлев, В.А. Сергунова, О.Е. Гудкова, А.М. Черныш // Общая

- реаниматология. 2012. T. VIII, №1. C. 52-60.
- 136. Москвин, С.В. Основы лазерной терапии / С.В. Москвин, В.А. Буйлин. М.; Тверь : Триада, 2006. 256 с.
- 137. Москвин, С.В. О первичных механизмах терапевтического действия низкоинтенсивного лазерного излучения / С.В. Москвин // Физиотерапия, бальнеология и реабилитация. 2012. №3. С.42-45.
- 138. Москвин, С.В. Основы лазерной терапии (Эффективная лазерная терапия) / С.В. Москвин. Тверь : Триада, 2016. Т. 1. 896 с.
- 139. Мохов, Б.П. Адаптационные особенности коров разных пород / Б.П. Мохов // Зоотехния. 2003. №3. С. 22-24.
- 140. Муравлёва, Л.Е. Белки эритроцитов. Миниобзор / Л.Е. Муравлёва, В.Б. Молотов-Лучанский, Д.А. Клюев, О.А.Понамарева, А.С. Калина, Г.Т. Колебаева // Advances in Current Natural Sciences. − 2013. №4. С. 28 31.
- 141. Муравьев, А.В. Деформируемость эритроцитов: основные механизмы срочной адаптации / А.В. Муравьев, Е.В. Ройтман, И.А. Тихомирова, А.А. Муравьев, С.В. Булаева, П.В. Михайлов // Тромбоз, гемостаз и реология. 2013. Т. 55, №3. С. 4 7.
- 142. Муравьев, А.В. Микромеханические ответы эритроцитов человека на стимулирование мембранных рецепторов, ионных каналов и ферментов / Муравьев А.В., Тихомирова И.А., Ахапкина А.А., Булаева С.В., Михайлов П.В., Муравьев А.А. // Российский журнал биомеханики. 2016. №1. С. 28 36.
- 143. Мысик, А.Т. Развитие животноводства в мире и России / А.Т. Мысик // Зоотехния. -2015. № 1. С. 2-5.
- 144. Нестеров, Ю.В. Морфофизиологические показатели эритроцитов при оксидативном стрессе на разных этапах онтогенеза / Ю.В. Нестеров, Д.Д Теплый // Живые и биокосные систем». 2015. №11; URL: http://www.jbks.ru/archive/issue-11/article-5.
- 145. Новицкий, В.В. Физиология и патофизиология эритроцита/ В.В. Новицкий, Н.В. Рязанцева, Е.А. Степовая. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2004.-202 с.
- 146. Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных. Справочное пособие. 3-е издание переработанное и дополненное. / Под ред. А.П. Калашникова, В.И. Фисинина, В.В. Щеглова, Н.И. Клейменова. Москва. 2003. 456 с.
- 147. Оказов, Т.А. Применение лазеропунктуры для телят / Т.А. Оказов, Т.К. Тезиев // Молочное и мясное скотоводство. 2008. №4 С. 34-35.
- 148. Оказов, Т.А. Рост, развитие, резистентность телят и молочная продуктивность коров при лазеропунктуре: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук: 06.02.04 / Оказов Темурболат Асланович. Владикавказ, 2009. 24 с.
- 149. Орел, Н.М. Функциональная биохимия / Орел Н.М. Минск: БГУ, 2015. 151 с.
- 150. Павлов, С.Е. Лазерная стимуляция в медико-биологическом

- обеспечении подготовки квалифицированных спортсменов. / С.Е. Павлов, А.Н. Разумов, А.С. Павлов. М.: Спорт, 2017. 216 с.
- 151. Пайтерова, В.В. Влияние НИЛИ на естественную резистентность телят в раннем постнатальном онтогенезе / В.В. Пайтерова, В.И. Максимов, А.Н. Козловский // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2009. №4. С. 59.
- 152. Панько, И.С. Применение лазеров в ветеринарии / И.С. Панько, В.М. Власенко, В.И. Издепский, Р.Л. Шевченко, М.В. Рубленко // Киев: Урожай, 1987. 88 с.
- 153. Парин, С.Б. Стресс, боль и опиоиды. Об эндорфинах и не только / С.Б. Парин // Минск: Дискурс, 2021. 208 с.
- 154. Пасько Н.В. Пероксидное окисление липидов, антиоксидантная система и оксид азота при послеродовых нарушениях сократительной функции матки у коров: автореф. дис. ... канд. биол. наук [Всерос. НИИ патологии, фармакологии и терапии РАСХН]. Воронеж, 2009. 21 с.
- 155. Патюков, А.Г. Взаимосвязь содержания ключевых стресслимитирующих гормонов с показателями свободнорадикального биомолекул окисления В крови коров на разных стадиях репродуктивного цикла / А.Г. Патюкова, И.П. Степанова, Я.С. Макарова, В.В. Мутак // Современные проблемы науки и образования. $-2015. - N_{2}4. - C. 501-509.$
- 156. Петухов, В.Л. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на минеральный состав сыворотки крови и щетины поросят / В.Л. Петухов, О.И. Себежко, О.С. Короткевич // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почёта» Государственная академия ветеринарной медицины. 2013. Т. 49. №21. С. 310-314.
- 157. Платохин, М.В. Некоторые данные по использованию лазерного излучения в лечебных целях / М.В. Платохин, А.Г. Ипатова // Науч. тр. МВА. -1974. Т. 73. №4 (2). С. 147-148.
- 158. Плященко, С.И. Стрессы у сельскохозяйственных животных / С.И. Плященко, В.Т. Сидоров. М.: Агропромиздат, 1987. 92 с.
- 159. Поберухин, М.М. Использование антистрессовых препаратов при транспортировке и предубойной подготовке крупного рогатого скота / М.М. Поберухин // Молочное и мясное скотоводство. 2014. №5. С. 15-17.
- 160. Полозюк, О.Н. Гематология / Полозюк О.Н., Ушакова Т.М. Персиановский: Донской ГАУ, 2019. 159 с.
- 161. Полушина, Н.Д. Клинико-экспериментальный анализ эффектов лазеротерапии / Н.Д. Полушина, Ю.М. Гринзайд, Е.А. Шляпак // Вопросы курортологии. 1997. №4. С. 14-16.
- 162. Преображенский, С.Н. Стрессоры причина снижения продуктивности коров / С.Н. Преображенский, О.Н. Преображенский // Ветеринария. 2001.- №11. С. 53-55.
- 163. Рапиев, Р.А. Биохимический статус организма животных как

- компенсаторно-регуляторная реакция на фоне действия стресса / Р.А. Рапиев, Р.Т. Маннапова // Фундаментальные исследования. 2013. №10-12. С. 2663—2666.
- 164. Рецкий, М.И. Методические положения по изучению процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты организма / М.И. Рецкий, С.В. Шабунин, Г.Н. Близнецова. Воронеж, 2010. 69 с.
- 165. Романова, Н.Ф. Эффективность низкоинтенсивного лазерного излучения при воздействии на сосковый канал вымени коров / Н.Ф. Романова, Т.В. Зубова, Е.В. Крисанова, В.В. Зубов // Достижения науки и техники АПК. 2013. №12. С. 54-55.
- 166. Рыбина, В.В. Регуляция активности Ca^{2+} -АТФ-азы ионами Ca^{2+} и кальмодулином в эритроцитах человека при различном времени хранения / В.В. Рыбина, И.А. Еленская, Н.П. Каймачников // Биологические мембраны. 2001. Т. 18, №4. С. 287 293.
- 167. Рязанцева, Н.В. Митогенактивированные протеинкиназы JNK и р38-редокс-зависимые молекулярные мишени нарушения апоптоза при окислительном стрессе / Н.В. Рязанцева, В.В. Новицкий, Е.В. Кайгородова, Н.Ю. Часовских, Е.Г. Старикова // Успехи физиологических наук. − 2009. − Т.40, №2. − С.3-11.
- 168. Самбуров, Н.В. Сравнительная характеристика голштинских коров разной линейной принадлежности / Н.В. Самбуров, Н.И. Астахова, Е.Я. Лебедько // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. 2018. №4. С. 111-114.
- 169. Селиверстов Е.С. Физиологическая регенерация системы эритрона в условиях злокачественной пролиферации лимфоидного и миелоидного ростков кроветворения: выпускная квалификационная работа Белгород, 2018. 64 с.
- 170. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме / Г. Селье. М.: Медицина, 1960. 254 с.
- 171. Семенович, Т.В. Характеристика влияния препарата Седимин на стрессовую реактивность коров //Т.В. Семенович, И.А. Лыкасова // Аграрный вестник Урала. 2011. №3(82). С.36-38.
- 172. Сергеева, А.С. Белки мембраны эритроцитов и метаболический синдром / А.С. Сергеева, Ю.И. Пивоваров, И.В. Бабушкина, Л.Б. Корякина, Е.О. Андреева // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2015. Т. 104, №4. С. 12 17.
- 173. Сержантова, А.И. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения
 - на поросят с различной стартовой массой тела / А.И. Сержантова // Вестник Новосибирского государственного аграрного университета. 2009. №2 (10). —С. 34-37.
- 174. Сержантова, А.И. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на продуктивные качества и ферментный статус поросят крупной белой породы в связи с их типом поведения / А.И.

- Сержантова, О.С. Короткевич // Вестник Новосибирского государственного аграрного университета. 2011. № 1(17). С. 79-82.
- 175. Сизов, Ф.М. Основы сокращения потерь мясной продукции при технологических стрессах в период выращивания, откорма и реализации молодняка крупного рогатого скота: дис. ... докт. с.-х. наук / Ф.М. Сизов Оренбург, 2019. 413 с.
- 176. Сирота, T.B. Стандартизация И регуляция скорости супероксидгенерирующей реакции адреналина, автоокисления используемой ДЛЯ определения про/антиоксидантных свойств различных материалов / Т.В. Сирота // Биомедицинская химия. – 2016. - T. 62, № 6. - C 650–655.
- 177. Спасов, А.А. Мембранотропное действие низкоэнергетического лазерного облучения крови / А.А. Спасов, В.В. Негода, О.В. Островский, К. Конан // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1998. Т. 126, №10. С. 412—416.
- 178. Срубилин, Д.В. Структурно-функциональные нарушения эритроцитов и их коррекция низкоинтенсивным лазерным излучением при субхронической интоксикации дихлоэтаном /Д.В. Срубилин, Д.А. Еникеева, И.Д. Исаков // Вестник новых медицинских технологий. 2012. Т.19(4). С. 105-108.
- 179. Степовик, Л.В. Физико-химиче-ские свойства эритроцитов крови крупного рогатого скота /Л.В. Степовик, В.А. Воронцов, А.Б. Хайруллина // Ветеринария. 1985. №2. С. 244-257.
- 180. Сторожук, П.Г. Ферменты прямой и косвенной антирадикальной защиты эритроцитов и их роль в инициации процессов оксигенации гемоглобина, антибактериальной защите и делении клеток / П.Г. Сторожук // Вестник интенсивной терапии. 2003. № 3. С. 8-13.
- 181. Сударев, Н.П. Разведение крупного рогатого скота голштинской и черно-пестрой пород в хозяйствах России, Центрального Федерального округа и Тверской области / Н.П. Сударев, Г.А. Шаркаева, Д.А. Абылкасымов, О.П. Прокудина, Ю.С. Кузнецова // Зоотехния. 2016. №3. С. 2—4.
- 182. Сусликова, М.И. Избранные вопросы физиологии крови / М.И. Сусликова, М.И. Губина, С.Г. Александров, А.Ф. Булнаева Иркутск: ИГМУ, 2021. 102 с.
- 183. Сюсин, И.В. Влияние ионов Ca²⁺ на фосфолипидный состав, состояние и морфологические характеристики эритроцитов: дисс. канд. биологических наук Саранск, 2015. 123 с.
- 184. Таганов, А.О. Измерение характерных параметрорв эритроцитов для диагностики их морфофункционального состояния методом когерентной микроскопии / А.О. Таганов, А.В. Кретушев, Т.В. Вышенская, М.А. Стенина, Л.И. Кривов, В.П. Тычинский // В книге: Научная сессия НИЯУ МИФИ-2011. Научно-техническая конференция-семинар по фотонике и информационной оптике. Сборник научных трудов. 2011. С. 36.

- 185. Тезиев, Т.К. Воздействие различных режимов лазеропунктуры на рост и резистентность телят / Т.К. Тезиев, Т.А. Оказов // Рациональное использование ресурсов в АПК: материалы Междунар. науч.-практ. конф. Владикавказ, 2008. С. 257-259.
- 186. Тимина, Л.И. Влияние биоспорина на адаптационные реакции иммунной системы белых мышей при различных видах стресса: экспериментальное исследование: автореф. дис.... канд. биол. наук. Саранск, 2017. 25 с.
- 187. Титова, Л.А. Гормональный статус надпочечников при локальном воздействии лазерного облучения / Л.А. Титова, З.А. Воронцова // Вестник новых медицинских технологий. 2011. №2. С.173-174.
- 188. Тихонов, С.Л. Адаптация бычков к стресс-факторам в условиях промышленной технологии : дис. ... канд. с.-х. наук: 06.02.04 / С.Л. Тихонов. Троицк, 2004. 131с.
- 189. Тихонов, С.Л. Стресс можно уменьшить // Животноводство России. -2007. N = 3. C.33.
- 190. Ткачева, Н.И. Динамика изменения показателей продуктивности импортного скота в период адаптации в ЦЧР / Н.И. Ткачева, Л.И. Кибкало, Н.А. Гончарова // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. 2010. № 5. С. 65-67.
- 191. Трофимов, А.Ф. Разработка методов сочетанного биофизического и биологического воздействия на продуктивные и резистентные качества телят / А.Ф. Трофимов, В.Н. Тимошенко, А.А. Музыка // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. Горки: Белорусская Государственная сельскохозяйственная академия. 2010. №13 (2). С. 415-422.
- 192. Трошкина, Н.А. Эритроцит: строение и функции его мембраны / Н.А. Трошкина, В.И. Циркин, С.А. Дворянский // Вятский медицинский вестник. 2007. № 2 3. С. 32 40.
- 193. Трубачева, О.А. Влияние повышенной Ca2+-зависимой калиевой проницаемости на деформируемость эритроцитов/ О.А. Трубачева// Вестник ТГПУ. 2011. Вып. 5(107). С. 69–71.
- 194. Трубников, Д.В. Технологический стресс как фактор снижения молочной продуктивности и воспроизводительной функции коров / Д.В. Трубников // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. 2015. № 1. С. 69-71.
- 195. Тычинский, В.П. Когерентная фазовая микроскопия внутриклеточных процессов /В.П. Тычинский // Успехи физических наук. 2001. Т. 171, № 6. С. 649-662.
- 196. Улитько, В.Е. Повышение стрессоустойчивости коров, их продуктивности и пищевой ценности молока при использовании в рационах антиоксидантных добавок / В.Е. Улитько, С.П. Лифанова, О.Е. Ерисанова // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2019. №2 (46). С. 197-2000.

- 197. Фомичев Ю. Тепловой стресс у лактирующих молочных коров и способы его профилактики / Ю. Фомичев, Н. Сулима, Е. Сидоров, О. Бардин // Молочное и мясное скотоводство. − 2013. − №2. − С. 30–32.
- 198. Фурдуй, Ф.И. Физиологические механизмы стресса и адаптации при остром действии стресс-факторов / Ф.И. Фурдуй; отв. ред. С.Х. Хайдарлиу. Кишинев: Штиинца, 1986. 240 с.
- 199. Фурман, Ю.В. Окислительный стресс и антиоксиданты / Ю.В. Фурман, Е.Б. Артюшкова, А.В. Аниканов // Актуальные проблемы социально-гуманитарного и научно-технического знания. 2019. № 1(17). С. 1-3.
- 200. Хайруллина Д.В., Макаров А.С. Электронная идентификация животных / Д.В. Хайруллина, А.С. Макаров// Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2011. Т. 206, №2. С. 236-240.
- 201. Хаитов, Р.М. Иммунитет и стресс / Р.М. Хаитов, В.П. Лесков // Российский физиологический журнал имени И. М. Сеченова. 2001. Т. 87, №8. С. 1060-1073.
- 202. Хрипач, Л.В. Разработка подходов к использованию показателей оксидантного равновесия организма для оценки рисков здоровью от загрязнений атмосферного воздуха / Л. В. Хрипач // Гигиена и санитария. $-2006. N \cdot 5. C. 37 44.$
- 203. Чекрышева, В.В. Эффективность комплексного лечения острого катарального мастита у коров /В.В. Чекрышева, В.Х. Млтыхян // Ветеринария и кормление. 2021. №6. С. 57-60.
- 204. Черныш, А.М. Структурные изменения спектринового матрикса эритроцитов при воздействии различных значений РН / А.М. Черныш, Е.К. Козлова, В.А. Сергунова, Е.А. Шерстюкова, О.Е. Гудкова, В.А. Иноземцев // Жизнеобеспечение при критических состояниях: материалы Всероссийской конференции с международным участием / ООО «Московское Конгрессное Бюро»; научный редактор В.Т. Долгих. Москва. 2020. С. 124 125.
- 205. Чеснокова, Н.П. Метаболические особенности эритроцитов / Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н. // Успехи современного естествознания. 2015. №1. С. 331 332.
- 206. Чеснокова, Н.П. Особенности структуры и функций эритроцитарной мембраны / Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н. // Успехи современного естествознания. 2015. №1. С. 328 331.
- 207. Чечушкова, М.А. Изменение скорости роста поросят под действием низкоинтенсивного лазерного излучения / М.А. Чечушкова, Г.А. Котомина // Студент и научно-технический прогресс: материалы XL Междунар. науч. студ. конф. Новосибирск, 2002. С. 211-212.
- 208. Чудновский В.М., Леонова Г.Н., Дроздов А.Л., Юсупов В.Н. Биологические модели и физические механизмы лазерной терапии. Владивосток: Дальнаука, 2002. 157 с.

- 209. Шалабодов, А.Д. Влияние солюбилизированных белков мембранного скелета эритроцитов на активность Na, K- ATФазы / А.Д. Шалабодов // Вестник ТюмГУ. Экология и природопользование. 2015. Т. 1, №1 (1). С. 171 182.
- 210. Шамонина, А.И. Влияние стресса на молочную продуктивность первотелок /А.И. Шамонина // Зоотехническая наука Беларуси. 2021. Т. 56, №2. С. 261-268.
- 211. Шишкина, Г.Т. Глюкокортикоидная гипотеза депрессии: история и перспективы / Г.Т. Шишкина, Н.Н. Дыгало // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016. Том 20. №2. С. 198–203.
- 212. Эритроциты, в норме, патологии и при лазерных воздействиях.- М. Тверь: «Издательство Триада», 2008. С. 4-8.
- 213. Юрьев, Е.А. Стресс сельскохозяйственных животных / Е.А.Юрьев, А.В.Котиков, Н.В.Чулкова // Ветеринария с.-х. животных. 2007. №12. —С.3-8.
- 214. Юсипович, А.И. Новые возможности исследования микробиологических объектов методом лазерной интерференционной микроскопии / А.И. Юсипович, Ю.Ю. Берестовская, В.В. Шутова, Г.Г. Левин, Л.М. Герасименко, Г.В. Максимов, А.Б. Рубин// Биофизика. 2011. Т.56, вып. 6. С. 1091—1098.
- 215. Ярован, Н.И. Биохимические аспекты оценки, диагностики и профилактики технологического стресса у сельскохозяйственных животных / Н.И. Ярован. М., 2008. 89 с.
- 216. Ярован, Н.И. Биохимические аспекты оценки, диагностики и профилактики технологического стресса у сельскохозяйственных животных: специальность 03.00.04: диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук / Ярован Наталья Ивановна. Москва, 2008. 277 с.
- 217. Abraham, E.H. Erythrocyte Membrane ATP Binding Cassette (ABC) Proteins: MRP1 and CFTR as Well as CD39 (Ecto-apyrase) Involved in RBC ATP Transport and Elevated Blood Plasma ATP of Cystic Fibrosis / E.H. Abraham, K.M. Sterling, R.J. Kim // Blood Cells, Molecules, and Diseases. − 2001. − Vol. 27. − Erythrocyte Membrane ATP Binding Cassette (ABC) Proteins. − №1. − P. 165-180.
- 218. Antipenko, E.A. Effects of nonspecific cytoprotective treatment on stress resistance and compensatory potential in patients with chronic cerebral ischemia / E.A. Antipenko, A.V. Deryugina, A.V. Gustov // Neuroscience and Behavioral Physiology. − 2017. − Vol. 47, №7. − P. 817 − 820.
- 219. Alaarg, A. Red blood cell vesiculation in hereditary hemolytic anemia / Alaarg A, R.M. Schiffelers// Front Physiol. 2010. № 4. P. 365.
- 220. Alexandratou, E. Human fibroblast alterations induced by low power laser irradiation at the single cell level using confocal microscopy / E. Alexandratou, D. Yova, P. Hadris [et al.] // Photochemical & Photobiological

- Sciences. 2003. Vol. 1 (8). P. 547-552.
- 221. Aoki, T. A Comprehensive Review of Our Current Understanding of Red Blood Cell (RBC) Glycoproteins / T. A. Aoki // Membranes. 2017. Vol. 7, №4. P. 56.
- 222. Arashiki, N. Maintenance and regulation of asymmetric phospholipid distribution in human erythrocyte membranes: implications for erythrocyte functions // N. Arashiki, Y. Takakuwa // Current opinion in hematology. − 2017. − Vol. 24, №3. − P. 167 −172.
- 223. Artificially induced unusual shape of erythrocytes: an atomic force microscopy study / M. Girasole [et al.]// Journal of Microscopy. 2001. Vol. 204. P. 46-52.
- 224. Bahr, F. Laser undbiologist Systems / F. Bahr // Deer Akupunkturarzt Auriculo therapevt. 2006. №1. P. 3-10.
- 225. Bajgar, R. High oxygen partial pressure increases photodynamic effect on HeLa cell lines in the presence of chloraluminium phthalocyanine / R. Bajgar, H. Kolarova, L. Bolek, S. Binder // Anticancer. Res. 2014. Vol. 34(8). P. 4095-4099.
- 226. Baum, J. Moglichkeiten und Grenzen der Akupunktur in der Schmerzambulanz / J. Baum // Akupunktur. 1986. Vol. 14, 2. P. 95-104.
- 227. Boyarinov, G.A. Pharmacological correction of microcirculation in rats suffering from traumatic brain injury / G.A. Boyarinov, A.V. Deryugina, E.I. Yakovleva, R.R. Zaitsev, M.L. Bugrova, L.V. Boyarinova, E.S. Filippenko, O.D.Solov'eva // Cell and Tissue Biology − 2017. − Vol. 11, №1. − P. 65 − 72.
- 228. Braun, J. Analysis by Fluorescence Resonance Energy Transfer of the Interaction between Ligands and Protein Kinase C in the Intact Cell / J. Baum // J Biol Chem. 2005. №280. P. 8164-8171.
- 229. Brazhe, N.A. New insight into erythrocyte through in vivo surface-enhanced Raman spectroscopy / N.A. Brazhe, S. Abdali, A.R. Brazhe, O.G. Luneva, N.Y. Bryzgalova, E.Y. Parshina, O.V. Sosnovtseva, G.V.Maksimov. New insight into erythrocyte through in vivo surface-enhanced Raman spectroscopy // Biophysical Journal. − 2009. − Vol. 97, №12. − P. 3206 − 3214.
- 230. Bennett, V. Membrane Domains Based on Ankyrin and Spectrin Associated with Cell-Cell Interactions / V. Bennett, J. Healy // Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. 2009. Vol.1, № 6. P. a003012-a003012.
- 231. Benzie, I. Evolution of antioxidant defence Mechanisms/ I. Benzie // Eur.J.Nutr. -2000. Vol. 39. P. 53-61.
- 232. Breitbart, H. Changes in calcium transport in mammalian sperm mitochondria and plasma membrane irradiated at 633 nm (HeNe laser) / H. Breitbart, T. Levinshal, N. Cohen, H. Friedmann, R. Lubart // J PhotochemPhotobiol. 1996. B.34. P. 117–121.
- 233. Burak, Çimen M.Y. Free radical metabolism in human erythrocytes // Clinica Chimica Acta. − 2008. − Vol. 390, №1–2. − P. 1–11.

- 234. Chu, H. Identification of cytoskeletal elements enclosing the ATP pools that fuel human red blood cell membrane cation pumps / H. Chu, E. Puchulu-Campanella, J.A. Galan // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2012. Vol. 109, №31. P. 12794-12799.
- 235. Coombe, A.R. The effects of low level laser irradiation on osteoblastic cells /A.R. Coombe, C.T. Ho, M.A. Darendeliler // Clinical Orthodontics and Research. 2001. Vol. 4, №1. P. 3–14.
- 236. Cotler The Use of low level laser therapy for musculoskeletal pain // MOJ Orthop Rheumatol. 2015. Vol. 2, №5. P. 00068.
- 237. Cui, Y. Reactive effect of low intensity HeNe laser upon damaged ultrastructure of human erythrocyte membrane in fen ton system by atomic force microscopy / Y. Cui, Z. Guo // Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai). 2007. P. 484–489.
- 238. González-Alonso, J. ATP as a mediator of erythrocyte-dependent regulation of skeletal muscle blood flow and oxygen delivery in humans: Erythrocytes contribute to the regulation of muscle oxygen supply / J. González-Alonso // The Journal of Physiology. 2012. Vol. 590. P. 5001-5013.
- 239. Greenwalt, T.J. The how and why of exocytic vesicles / T.J. Greenwalt // Transfusion. -2006. $-\cancel{N}_{2}46$. -P. 143-152.
- 240. Davies, S.S. Lipid peroxidation generates biologically active phospholipids including oxidatively N-modified phospholipids / S.S. Davies, L. Guo// Chem. Phys. Lipids. 2014. Vol. 181. P. 1–33.
- 241. Deponte, M. Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathionedependent enzymes /M. Deponte // Biochim.Biophys. Acta 2013. Vol. 1830. P. 3217-3266.
- 242. Derkacz, A. Usefulness of intravascular low-power laser illumination in preventing restenosis after percutaneous coronary intervention / A. Derkacz, M. Protasiewicz, R. Poreba, A. Szuba, and R. Andrzejak // American Journal of Cardiology. − 2010. Vol. 106, №8. − P. 1113–1117.
- 243. Deryugina, A.V. Functional and biochemical parameters of erythrocytes during mexicor treatment in posttraumatic period after experimental blood loss and combined traumatic brain injury / A.V. Deryugina, A.V., Shumilova, E.S. Filippenko, Y.V. Galkina, I.S. Simutis, G.A. Boyarinov // Bulletin of experimental biology and medicine. − 2017. − Vol. 164, №1. − P. 26 − 29.
- 244. Deryugina, A.V. Research of Erythrocytes Membranes Change by Laser Interference Microscopy / A.V. Deryugina, M.N. Ivashchenko, P.S. Ignatyev, A.A. Belov, M.N. Talamanova, V.A. Petrov // Opera Med et Physiologica. 2020. Vol. 7 (2). P. 5-11;
- 245. Diez-Silva, M. Shape and biomechanical characteristics of human red blood cells in health and disease / Diez-Silva M, Dao M// MRS Bull. 2010. –№35. P. 382-388.
- 246. Dröge, W. Free radicals in the physiological control of cell function / W. Dröge // Physiological Reviews. 2002. Vol. 82, №1. P. 47–95.

- 247. Duan, R. Signal transduction pathways involved in low intensity He-Ne laser-induced respiratory burst in bovine neutrophils: a potential mechanism of low intensity laser biostimulation / R. Duan, T.C. Liu, Y. Li// Lasers Surg Med. − 2001. −№29. − P. 174–178.
- 248. Dunning, S. Glutathione and antioxidantenzymes serve complementary roles in protecting activated hepatic stellate cells against hydrogen peroxideinduced cell death / S. Dunning, A. Ur Rehman, M.H. Tiebosch // Biochim Biophys Acta. 2013. Vol. 1832 (12). P. 2027-2034.
- 249. Ellman G.L. Tissue sulfliydryl groups / G.L.Ellman // Arch. Biochem. Biophys. −1959. −Vol.82, №1. −P.70-77.
- 250. Effect of Hydrogen Peroxide Exposure on Normal Human Erthrocyte Deformability, Cross-linking/ L.M. Snyder [et al.]// J. Clin Invest. 1985. Vol. 76. P. 1971-1977.
- 251. Elsasser, T.H. Cytokines in Animal Health and Disease / T.H. Elsasser, N.C. Steele, R.Faye // CRC Press, Boca Raton, FL, USA. 2020. 290 p.
- 252. Foller, M. Eruthrocyte programmed cell death / M. Foller, S.M. Yuber, F. Lang // Department of Physiology, University of Tubingen. − 2008. − №60. − P. 661–668.
- 253. Forman, H.J. Redox signaling: thiol chemistry defines which reactive oxygen and nitrogen species can act as second messengers/ H. Forman, J.M. Fukuto, M. Tottes // Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2004. –Vol. 287 (2). P. 246-256.
- 254. Friederichs E. Influence of Calcium Permeabilization and Membrane-Attached Hemoglobin on Erythrocyte Deformability / E. Friederichs, R.A. Farley, H.J. Meiselman // American Journal of Hematology. 1992. Vol. 41. P. 170-177.
- 255. Ghosh, S. Changes in cytosolic Ca²⁺ levels correspond to fluctuations of lactate levels in crosstalk of astrocyte neuron cell lines / S. Ghosh, D. K. Kaushik, J. Gomes, S. Nayeem, S. Deep, A. Basu // Indian J. Exp. Biol. 2010. Vol. 48, №6. P. 529–537.
- 256. Go, Y.-M. Cysteine/cystine redox signaling in cardiovascular disease /Y.-M. Go, D.P. Jones // Free Radic. Biol. Med. 2011. Vol. 50, №4. P. 495–509.
- 257. Hensley, K. Reactive oxygen species, signaling and cell injury /K. Hensley, K.A. Robinson, S.P. Gabbita, S. Salsman, R.A. Floyd // Free Radic Biol Med. − 2000. − №10. − P. 1456-1462. 10.1016/S0891-5849(00)00252-5.
- 258. Hough, M.A. Conformational variability of the Cu site in one subunit of bovine Cu,Zn superoxide dismutase: the importance of mobility in the Glu 119-Leu 142 loor regionb for catalytic function /M.A. Hough, R.W. Strange, S.S. Hasnain // J. Mol. Biol. 2000. Vol. 204 (2). P. 231-141.
- 259. Jensen, F.B. Red blood cell pH, the Bohr effect and other oxygenation-linked phenomena in blood O₂ and CO₂ transport / F.B. Jensen

- // Acta Physiol. Scand. 2004. Vol. 182. P. 215-223.
- 260. Karu, T. Cellular effects of low power laser therapy can be mediated by nitric oxide / T. Karu, LV. Pyatibrat, N.I. Afanasyeva// Lasers Surg. Med. –2005. Vol. 36(4). P. 307–314.
- 261. Karu, T. Low-power laser effects / T. Karu // Lasers in Medicine. 2002. Vol. 1. P. 171-209.
- 262. Kassak, P. The response of Na/KATFase of human erythrocytes to green laser light treatment / P. Kassak, L. Sikurova, P. Kvasnicka, M. Bryszewska // Physiol. Res. 2006. Vol. 55 (2). P.189–194.
- 263. Kim, S. The cell-free layer in microvascular blood flow /S. Kim, P.K. Ong, O. Yalcin, M. Intaglietta, P.C. Johnson // Biorheology. 2009. − №46. P. 81–89.
- 264. Kujawa, J. The effect of near-infrared MLS laser radiation on cell membrane structure and radical generation / J. Kujawa, K. Pasternak, I. Zavodnik, R. Irzmański, D. Wróbel, M. Bryszewska // Lasers in Medical Science. 2014. Vol. 29. P. 1663–1668.
- 265. Koshkaryev, A. Acridine orange induced translocation of phosphatidylserine of red blood cell surface/ A. Koshkaryev, S. Yedgar, H. Relevy // Amer.J. Physiol. 2003. Vol. 285. P.720–722.
- 266. Lang F., Lang K.S., Wieder T., Myssina S. et al. // Pfl ugers Arch. 2003. Vol. 447(2). P. 121–125.
- 267. Luo, G-Y. Aquaporin-1-mediated effects of low level He-Ne laser irradiation on human erythrocytes / G-Y. Luo, L. Sun// International Journal of Photoenergy. 2012. №1110. P. 662X.
- 268. Mairbäurl H., Weber R.E. Oxygen Transport by Hemoglobin // Physiol. 2012. Vol. 2. P. 1463–1489.
- 269. Lang P.A., Kaiser S., Myssina S., Wieder T., Lang F., Huber S.M. // Am J Physiol Cell Physiol. 2003. Vol. 285(6). P. 1553–1560.
- 270. Lang, F. Mechanisms and significance of eryptosis / K.S. Lang, P.A. Lang, S.M. Huber // Antioxid Redox Signal. 2006. № 8(8). P. 1183–92.
- 271. Liu, T.C.Y. Membrane mechanism of low intensity laser biostimulation on a cell / T.C.Y. Liu, J.L. Jiao, R. Duan, Y. Li, Y.Y. Yeung, S.H. Liu// Lasers in Medicine, Surgery and Dentistry. Croatia: European Medical Laser Association. − 2003. − №6. − P. 83–105.
- 272. Liu, T.C.Y. Homeostatic photobiomodulation / T.C.Y. Liu, R. Liu, L. Zhu, J.Q. Yuan, M. Wu, S.H. Liu // Front Optoelectron China. 2009. №1. P. 1–8.
- 273. Lin, H. Response of rectal temperature of broiler chickens to thermal environment factors / H. Lin, J. Buyse, R. Du // Archiv fur Geflugelkunde. 2004. Vol. 68 (3). P. 126–131.
- 274. Lestas, G. Fundamental limits on the suppression of molecular fluctuations / G. Lestas, J. Paulsson // Nature. 2010. Vol. 467, №7312. P. 174–178.
- 275. Lubart, R. Low-energy laser irradiation promotes cellular redox activity / R. Lubart, M. Eichler, R. Lavi, H. Friedman // Photomedicine and

- Laser Surgery. $-2005. \text{Vol. } 23, \, \text{N}_{2}1. \text{P. } 3-9.$
- 276. Mattecci, E. Erythrocyte ATPase enzymes family in normal people / Cocci F., Pellegrini L., Gregori G., Navalesi R., Giampietro O. // Eur. J. Clin. Jnvest. − 1992. − Vol. 22, № 4. − P. 11-18.
- 277. Mochizuki-Oda Effects of near infrared irradiation on adenosine triphosphate and adenosine diphosphate contents of rat brain tissue // NeurosciLett. 2002. Vol. 323. P. 207–210.
- 278. Murakami, K. Oxidation of hemoglobin to methemoglobin in intact erythrocyte by a hydroperoxide induces formation of glutathionyl hemoglobin and binding of α-hemoglobin to membrane / K. Murakami, S. Mawatari // Archives of Biochemistry and Biophysics. 2003. Vol. 417, № 2. P. 244-250.
- 279. Murate, M. Revisiting transbilayer distribution of lipids in the plasma membrane / M. Murate, T. Kobayashi // Chemistry and Physics of Lipids. 2016. Vol. 194, №24. P. 58 71.
- 280. Musashi, M. The role of protein kinase C isoforms in cell proliferation and apoptosis/ M. Musashi, S. Ota, N. Shiroshita // Int J Hematol. 2000. 72. —P. 12-19.
- 281. Mormede, P. Exploration of the hypothalamic-pituitary adrenal function as a tool to evaluate animal welfare / P. Mormede, S. Andanson, B. Auperin // Physiol. Behav. 2007. Vol. 92. P. 317–339.
- Nagata, S. Exposure of phosphatidylserine on the cell surface / S. Nagata, J. Suzuki, K. Segawa, T. Fujii // Cell Death & Differentiation. 2016. Vol. 23, №6. P. 952 961.
- 283. Nunomura, W. Regulation of protein 4.1R interactions with membrane proteins by Ca²⁺ and calmodulin / W. Nunomura, Y. Takakuwa // Frontiers in Bioscience. 2006. Vol. 1, №11. P. 1522 1539.
- 284. Oonishi, T. Regulation of red blood cell filterability by Ca²⁺ influx and cAMP-mediated signaling pathways/ T. Oonishi, K. Sakashita, N. Uyesaka // Am J Physiol 1997. Vol. 273, №6 P. 1828–1834.
- 285. Pamplona, R. Molecular and structural antioxidant defenses against oxidative stress in ani-mals /R. Pamplona, D. Costantini // American Journal of Physiology. − 2011. − Vol. 301, №4. − P. 843-863.
- 286. Pastore, A. S-Glutathionylation signaling in cell biology: progress and prospects /A. Pastore, F. Piemonte // Eur. J. Pharmaceutic. Sci. 2012. Vol. 46, №5. P. 279–292.
- 287. Popescu, G. Erythrocyte structure and dynamics quantified by Hilbert phase microscopy/ G. Popescu, T. Ikeda, C.A. Best, K. Badizadegan, R.R. Dasari, M.S. Feld // J Biomed.Opt. 2005. V.10. P.060503.
- 288. Puchulu-Campanella, E. Identification of the Components of a Glycolytic Enzyme Metabolon on the Human Red Blood Cell Membrane / E. Puchulu-Campanella, H. Chu, D.J. Anstee // Journal of Biological Chemistry. − 2013. − Vol. 288. − № 2. − P. 848-858.
- 289. Regan, E.A. Joint fluid antioxidants are decreased in osteoarthritic joints compared to joints with macroscopically intact cartilage and subacute

- injury / E.A. Regan, R.P. Bowler, J.D. Crapo.// Osteoarthritis Cartilage. 2008. Vol. 16. P. 515-521.
- 290. Robak, T. Czynnik wzrostowy komórek pina (SCF) / T. Robak // Acta. haematol. pol. 1994. Vol. 25, № 3. P. 205-214.
- 291. Romero, L.M. Physiological stress in ecology: lessons from biomedical research / L.M. Romero // Trends in Ecology and Evolution. 2004. №19. P. 249-255.
- 292. Sauer, H. Mechanical strain-induced Ca²⁺ waves are propagated via ATP release and purinergic receptor activation/ H. Sauer, J. Hescheler, M. Wartenberg // Am J Physiol Cell Physiol 2000. №279. P. 295–307.
- 293. Siems, W.G. Erythrocyte free radical and energy metabolism / W.G. Siems, O. Sommerburg, T. Grune // Clinical nephrology. 2000. Vol. 53. P. 9–17.
- 294. Silveira, P.C. Evaluation of mitochondrial respiratory chain activity in wound healing by low-level laser therapy / Silveira PC, Streck EL, Pinho RA// J Photochem Photobiol B. −2007. Vol. 86, №3. P. 279-282.
- 295. Siems, W.G. Erythrocyte free radical and energy metabolism / W.G. Siems, O. Sommerburg, T. Grune // Clinical nephrology. 2000. Vol. 53. P. 9–17.
- 296. Sosnovtseva, O.V. Interference microscopy under double wavelet analysis: a new approach to studying cell dynamics / O.V. Sosnovtseva, A.N. Pavlov, N.A. Brazhe, A.R. Brazhe, L.A. Erokhova, G.V. Maksimov // Phys.Rev.Lett. 2005. V.94. P.218103.
- 297. Sridharan, M. Prostacyclin receptor-mediated ATP release from erythrocytes requires the voltage-dependent anion channel / M. Sridharan, E. A. Bowles, J.P. Richards, M. Krantic, K.L. Davis, K.A. Dietrich, A.H. Stephenson, M.L. Ellsworth, R.S. Sprague // American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. − 2012. − Vol. 302, № 3. − H553− H559.
- 298. Spodaryk, K. The influence of low-power laser energy on red blood cell metabolism and deformability / K. Spodaryk // Clinical Hemorheology and Microcirculation. 2001. Vol. 25, № 3-4. P. 145–151.
- 299. Schindl, A. Systemic effects of low–intersity laser irradiation on skin microcirculation in patients with diabetic microangiopathy/ A. Schindl// Microvasc.Res. 2002. Vol. 64(2). P. 240–246.
- 300. Tallo-Parra, O. Prediction of Cortisol and Progesterone Concentrations in Cow Hair Using Near-Infrared Reflectance Spectroscopy /O. Tallo-Parra, E. Albanell, A. Carbajal, L. Monclús, X. Manteca, M. Lopez-Bejar // Applied Spectroscopy. − 2017. − №71. − P. 1954–1961.
- 301. Tellone, E. New role for an old molecule: The 2,3-diphosphoglycerate case / E. Tellone, D. Barrecaa, A. Russob, A. Galtieria, S. Ficarraa // Biochimica et Biophysica Acta. − 2019. − Vol. 1863, №10. − P. 1602 − 1607.
- 302. Tychinsky, V.P. Coherent phase microscopy in cell biology: visualization of metabolic states / V.P. Tychinsky, A.V. Kretushev, T.V. Vyshenskaya, A.N. Tikhonov // Biochim.Biophys.Acta. 2005. V. 1708.

- P. 362-366.
- 303. Xu, X. Low-Intensity Laser Irradiation Improves the Mitochondrial Dysfunction of C_2C_{12} Induced by Electrical Stimulation / X. Xu, X Zhao, T.C-Y. Liu, H. Pan// Photomed Laser Surg. 2008. Vol. 26, №3. P. 197-202. 10.1089/pho.2007.2125.
- 304. Verhoeven, A.J. Prolonged storage of red blood cells atfects aminophospholipid translocase activity / A.J. Verhoeven, P.M. Hilarius, D.W. Dekkers, J.W. Lagerberg, D. de Korte // Vox sanguinisio −2006. Vol. 91, №3. P. 244–251.
- 305. Voccoli, V. Role of extracellular calcium and mitochondrial oxygen species in psychosine-induced oligoden-drocyte cell death / V. Voccoli, I. Tonazzini, G. Signore, M. Caleo, M. Cecchini // Cell Death and Disease. 2014. Vol. 5. P. 1–12.
- 306. Walter, H. Fixation with even small guantities of glutaraldehyde effects red bloods cell surface properties in a cell / H. Walter, E.J. Krob // Bioscience reports. 1989. Vol. 9. P. 727-735.
- 307. Willner, P. The chronic mild stress (CMS) model of depression: History, evaluation and usage / P. Willner // Neurobiol Stress. 2017. №6. P. 78-93.
- 308. Wojcicki, W.E. Structural and binding properties of the stilbenedisulfonate sites on erythrocyte bands 3: an electron paramagnetic resonance study using spin-labeled stilbenedisulfonates / W.E. Wojcicki // Biochem. − 1993. − Vol.32, №36. − P. 9454-9464.
- 309. Yamaguchi and Fukuzaki, Yamaguchi, T. ATP effects on response of human erythrocyte membrane to high pressure / T. Yamaguchi, S. Fukuzaki // Biophysics and physicobiology. 2019. Vol. 16. P. 158 166.
- 310. Yamaguchi, T. ATP effects on response of human erythrocyte membrane to high pressure / T. Yamaguchi, S. Fukuzaki // Biophysics and physicobiology. 2019. Vol. 16. P. 158 166.
- 311. Yachie-Kinoshita, A.A. Metabolic Model of Human Erythrocytes: Practical Application of the E-Cell Simulation Environment / A. Yachie-Kinoshita, T. Nishino, H. Shimo // Journal of Biomedicine and Biotechnology. −2010. − №7. − P. 1–14.
- 312. Yuen, E.Y. Molecular and Epigenetic Mechanisms for the Complex Effects of Stress on Synaptic Physiology and Cognitive Functions / E.Y. Yuen, J. Wei, Z. Yan // Int J N europsychopharmacol. − 2017. − №20 (11). − P. 948-955.