

ОТЗЫВ официального оппонента

доктора биологических наук, ведущего научного сотрудника, зав. отделом физиологии и биохимии сельскохозяйственных животных ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста» Боголюбовой Надежды Владимировны о диссертационной работе Белова Андрея Александровича «Морфофункциональные показатели эритроцитов при технологическом стрессе и коррекции состояния организма коров низкоинтенсивным лазерным излучением», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 – физиология человека и животных

Актуальность темы исследования. Обеспечение стабилизации объемов производства животноводческой продукции и условие ее дальнейшего роста базируется на повышение темпов развития животноводства.

Интенсивное ведение животноводства на промышленных комплексах приводит к противоречию технологии выращивания и содержания животных с их генетически детерминированными физиологобиохимическими особенностями, что позволяет рассматривать данную технологию как стрессогенную. Воздействие ряда стресс-факторов, сопровождающих данную технологию, увеличивают нагрузку на адаптационные способности организма, что влечет за собой снижение воспроизводительной функции, потерю продуктивных показателей, а, следовательно, и рентабельности отрасли. Резервом увеличения продуктивности животных является снижение потерь, наносимых животноводству стрессами. Однако, в условиях промышленного животноводства не представляется возможным избавиться от стрессов, так как на любое технологическое воздействие организм реагирует развитием стресс реакции. Поэтому актуальным является разработка способов эффективного проведения профилактических мероприятий и возможности коррекции возникающих повреждений при различных видах технологического стресса. Вопросы адаптации крупного рогатого скота приобретают особую важность в плане сохранения благоприятной динамики состояния здоровья молочного поголовья. Оптимизация и профилактика стресса невозможна без изучения процесса адаптации.

В данной области проведены многочисленные исследования, однако многие вопросы остаются невыясненными и требуют разрешения. В частности, недостаточная изученность приспособления организма к повреждающим факторам среды, в особенности молекулярно-клеточных и функциональных основ, не позволяет раскрыть основные моменты потери продуктивности при технологическом стрессе и тем самым разработать научно-обоснованные меры борьбы с ним.

Комплекс реакций, возникающих в ответ на воздействие стрессоров,

связан с мобилизацией энергетических резервов организма, что приводит к значительным изменениям в функциональном статусе органов и желез внутренней секреции, интенсивности и направленности метаболических процессов, как правило, с образованием продуктов свободнорадикального окисления, что является пусковым звеном снижения резистентности. Все это отражается на продуктивном здоровье крупного рогатого скота, и выражается в таких экономических показателях как удой, воспроизводство, долголетие, качество молока. В связи с этим особое внимание должно уделяться исследованиям механизмов действия методов и средств, направленных на повышение антиоксидантного и метаболического резерва организма.

В работе в качестве стресс-лимитирующего метода предлагается использования НИЛИ. При этом до настоящего времени действие низкоинтенсивного излучения рассматривается на уровне гипотез, не раскрывающих полностью механизма возникновения биологической реакции на лазерное излучение, а лишь демонстрируют различные стороны общего ответа организма на разных уровнях его реализации. Научное обоснование тактики применения НИЛИ на организм животных остается недостаточным, поскольку биологические механизмы действия низкоинтенсивных ЭМИ на биологические системы на сегодняшний день малоизучены. Исходя из отмеченного поставленные в работе цель и задачи исследования, связанные с изучением ответной реакции эритроцитов на действие стресса и НИЛИ, а также механизмов НИЛИ в качестве корректора функционального состояния организма животных, являются актуальными.

Научная новизна и теоретическая значимость проведенных исследований и полученных результатов. Автором впервые проведена комплексная оценка интерференционных портретов эритроцитов, электрокинетических показателей эритроцитов, окислительно-восстановительного и метаболического состояния эритроцитов крупного рогатого скота при технологическом стрессе.

Исследование механизмов развития технологического стресса проведено на эритроцитах, что позволяет разработать методы диагностики стресс реакции на уровне клеток.

Установлены клеточные, метаболические и системные механизмы, развивающиеся при действии технологического стресса и способствующие процессам адаптации при действии НИЛИ.

Разработана схема использования антистрессовой коррекции технологического воздействия действием НИЛИ для повышения резистентности животных и повышения их продуктивности.

Значимость результатов диссертационного исследования для науки и практики. Современные условия развития животноводства диктуют необходимость в совершенствовании технологий доступных в ветеринарной торговой сети, экономически выгодных, основанных на синергизме отдельных веществ, не вызывающих побочных действий в

организме и не аккумулирующихся в нем при планировании и проведении различных технологических воздействий, что позволит корректировать негативное воздействие стрессоров и повысить продуктивность животных.

В работе автором доказаны механизмы негативного воздействия технологического стресса и исследованы эффекты действия НИЛИ на клеточном и организменном уровне на основе которых, разработана схема профилактических мероприятий, связанных с использованием действия НИЛИ, повышающей резистентность животных, что позволяет снизить экономический ущерб, наносимый стрессами.

Результаты исследования используются в учебном процессе Института биологии и биомедицины и факультета физической культуры и спорта Национального исследовательского Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского.

Обоснованность и достоверность полученных результатов. В диссертационном исследовании проведен многоплановый анализ имеющейся теоретической базы. Обоснованность научных положений и выводов, сформулированных в диссертации, доказывается тем, что собственные данные получены на сертифицированном оборудовании, выборка репрезентативна (48 высокопродуктивных коров 2 лактации). Содержание работы построено на известных, проверенных данных и фактах; использованные методы являются обоснованы, современны и соответствуют поставленной цели; полученные результаты обсуждены с учетом данных отечественной и зарубежной литературы, в том числе и последних лет; автором обоснован выбор методов статистической обработки данных, статистический анализ полученных результатов позволяет сделать заключение о достоверности различий в рамках проведенных исследований.

Структура и общая характеристика диссертационной работы. Диссертация Белова А.А. включает традиционные для диссертационного исследования главы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты и обсуждение, заключение, выводы, список литературы, кроме того, в работе содержатся рекомендации производству. Полный объем диссертации составляет 122 страницы печатного текста, включая 11 рисунков и 20 таблиц. Библиографический указатель содержит 312 источников, из которых 96 - иностранные.

Во введении автор обосновывает актуальность выбранной темы исследования, аргументирует целесообразность исследования эритроцитов в качестве объекта исследования при технологическом стрессе, формулирует цель и задачи исследования, представляет научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, положения, выносимые на защиту, реализацию результатов исследования, приведены сведения об апробации и публикациях.

Первая глава диссертации (обзор литературы) написана грамотным языком, включает три раздела в которых отражены современные представления об объекте и методе исследования. В

частности, изложены современные данные по старению и метаболизму эритроцитов, по теории развития стрессовой реакции и ее проявлении при технологическом стрессе у крупного рогатого скота, а также подробно приведены физико-химические свойства НИЛИ и его влияние на функциональное состояние организма. Автор отмечает, что использование НИЛИ в качестве возможного корректора состояния организма животных при различных патологиях находит свое применение в животноводстве и является важным фактором в качестве безопасного адаптогена, действие которого при технологическом стрессе необходимо изучать для расширения его внедрения в животноводстве.

Во второй главе (материалы и методы исследования) автором дана характеристика объекта исследования, технологического стресса и схемы проводимого исследования. В исследовании приняло участие 48 высокопродуктивных коров, дополнительно проведено исследование эритроцитов *In vitro*. Исследование проведено 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 Н от 28 августа 2010 г. Работа выполнена на современном сертифицированном оборудовании. Дизайн исследования соответствует цели и задачам работы. Группы животных подобраны корректно, их численность достаточна для получения аргументированных выводов и практических рекомендаций. Использованные автором методики позволяют в полном объеме решать поставленные задачи. Выбор методов статистической обработки материала обоснован и соответствует задачам исследования. Объем выборок достаточен для корректной статистической обработки.

В первом разделе собственных исследований (третья глава) описано действие технологического стресса и НИЛИ на морфологические, метаболические и функциональные показатели эритроцитов. Показано, что в состоянии технологического стресса у всех животных наблюдалось выраженное изменение изучаемых характеристик эритроцитов, что проявлялось в их морфологическом состоянии и регистрировалось с использованием интерференционной лазерной микроскопии. Отмечено, что изменение фазовой высоты и фазового диаметра сочеталось с изменением метаболической активности эритроцитов и их окислительным потенциалом. Установлено, что применение НИЛИ вызывало частичное восстановление показателей эритроцитов к уровню физиологической нормы. При этом автор отмечает, что активация процессов восстановления при действии НИЛИ может реализовываться различными механизмами и обуславливает, и обосновывает следующий раздел исследований, связанный с изучением действия НИЛИ в экспериментах *in vitro* на эритроциты.

В следующем разделе (3.2) собственных исследований представлены результаты исследования действия НИЛИ в экспериментах *in vitro* на фазово-интерференционные изображения эритроцитов коров,

морфологию эритроцитов, а также электрокинетические и метаболические показатели эритроцитов от интактных животных и животных после технологического стресса. Показано, что НИЛИ проявило действие на эритроциты коров после технологического стресса, тогда как на эритроциты нестressedированных коров не оказывало значимого воздействия. Автор делает заключение, что действие НИЛИ определяется функциональным и метаболическим состоянием эритроцитов и в соответствии с данным тезисом проведён следующий этап исследования с предварительной инкубацией эритроцитов с адреналином, кортизолом, блокаторами адренорецепторов и глутаровой фиксацией клеток.

Раздел 3.3. посвящен исследованию действия НИЛИ при модификации эритроцитов стресс-реализующими агентами и стресс-ограничивающими препаратами. По результатам данного раздела исследования автор делает заключение, при действии 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 направлено на нормализацию клеточных функций. Динамика фазовых параметров эритроцитов, полученная методом лазерной интерференционной микроскопии, показала зависимость от функционального состояния эритроцитов и определялась изменением концентраций АТФ, 2,3ДФГ и МДА. Обсуждено проявление эффектов НИЛИ через адренорецепторы и белок-липидную фазу мембран эритроцитов.

Разделы 3.4. и 3.5. посвящены исследованию НИЛИ на физиологобиохимические показатели крови и молочную продуктивность коров в условиях технологического стресса. Проведенный автором комплексный анализ полученных данных свидетельствует об эффективности действия НИЛИ для нивелирования проявления технологического стресса как на физиологобиохимические показатели животных, так и на количество и качество молока. По мнению автора, повышение продуктивности коров при действии НИЛИ опосредовано адаптационными перестройками организма в ответ на влияние НИЛИ.

Далее следует заключение, в котором автор приводит логическое обобщение результатам проделанной исследовательской работы. Отмечено, что стресс сопровождается морфофункциональными изменениями форменных элементов крови, в первую очередь эритроцитов, изменение которых приводит к нарушению газообмена, изменению pH крови и как следствие, изменению обмена веществ у животных. Восстановление или сохранение популяции функциональных эритроцитов при действии НИЛИ опосредует восстановление метаболизма, нарушенного при стрессе. Заключение содержит не только обобщение результатов, но и предполагаемые механизмы реализации действия НИЛИ, что отражено графически в двух обобщающих рисунках, которые позволяют проанализировать процессы, идущие при действии НИЛИ как

на уровне клеток, так и на уровне целостного организма.

Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах. Основные результаты работы представлены на конгрессах и конференциях различного уровня. По материалам диссертации опубликована 37 печатных работ, из которых 15 – в ведущих рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, рецензируемых в базах данных Web of Science, Scopus, 21 – тезисы конференций, 1 – патент РФ. Автореферат диссертации полностью отражает содержание работы.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации. Разработанный А. А. Беловым анализ фазовых характеристик эритроцитов в качестве возможного метода, отражающего метаболическое состояние эритроцитов при технологическом стрессе и действии НИЛИ можно рекомендовать в качестве неинвазивного объективного экспресс-метода функционального состояния эритроцитов. Использование НИЛИ следует рекомендовать в качестве метода нивелирующего последствия развития технологического стресса у высокопродуктивных коров. Полученные автором материалы исследования используются в учебном процессе Института биологии и биомедицины Национального исследовательского Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского.

В целом, диссертационную работу Белова А.А. отличает глубокое знание изучаемой научной проблемы. Полученный в ходе исследования материал и стремление автора детально объяснить установленные научные факты позволяют дать работе высокую оценку. Однако в ходе ознакомления с работой возникли следующие вопросы:

1. Что вам известно о роли окислительного стресса в развитии технологического стресса?
2. Чем обосновано использование лазерной интерференционной микроскопии как метода исследования эритроцитов?
3. Чем обусловлен выбор биохимических показателей крови в организме животных при проведении исследований?

В тексте работы присутствуют грамматические и орфографические ошибки, неудачные выражения. Указанные замечания не имеют принципиального значения и не влияют на общую положительную оценку диссертации.

Заключение.

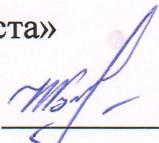
Таким образом, диссертационная работа Белова Андрея Александровича «Морфо-функциональные показатели эритроцитов при технологическом стрессе и коррекции состояния организма коров низкоинтенсивным лазерным излучением» является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача, имеющая существенное значение для физиологии животных, а именно: доказано, эффективность использования НИЛИ в условиях технологического стресса и выявлены механизмы его реализации через

мембранные и сигнальные системы клеток. Выводы диссертационной работы обоснованы. Автореферат полностью отражает содержание диссертации и оформлен в соответствии с установленными требованиями.

Оценивая работу в целом, можно заключить, что по объему проведенных исследований, по научной значимости полученных результатов, по разнообразию и адекватности примененных методов исследования, данная диссертация соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук (п. № 9 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК РФ, утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г.), а ее автор – Белов Андрей Александрович заслуживает присвоения ему ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 – физиология человека и животных.

Официальный оппонент:

Зав. отделом физиологии
и биохимии сельскохозяйственных животных,
ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр
животноводства – ВИЖ
имени академика Л.К. Эрнста»
д.б.н., в.н.с.

 Боголюбова Надежда Владимировна

«09» февраля 2023 года.

Подпись Боголюбовой Н.В. заверяю
Ученый секретарь ФГБНУ ФЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста

 Сивкин Н.В.

ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр
животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста»
Адрес: 142132, Московская область, г. о. Подольск,
п. Дубровицы, д. 60, ВИЖ им. Л.К. Эрнста
Телефон: (4967) 65-11-01
E-mail: 652202@mail.ru