

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук, главного научного сотрудника лаборатории доклинических исследований и моделирования биологических систем ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии» Востроиловой Галины Анатольевны на диссертационную работу Белова Андрея Александровича «Морфо-функциональные показатели эритроцитов при технологическом стрессе и коррекции состояния организма коров низкоинтенсивным лазерным излучением», представленную к защите в диссертационный совет 24.2.340.06 при Нижегородском государственном университете им. Н.И. Лобачевского на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 – физиология человека и животных.

Актуальность избранной темы. Одним из приоритетных направлений научных исследований в настоящее время является проблема стресса. Данная тематика актуальна и для сельскохозяйственных животных. В частности, стресс факторы в животноводстве могут быть кормовые, климатические, технологические. Независимо от вида стрессового фактора все стрессы влияют на воспроизводительные, продуктивные и адаптационные возможности организма животных. При этом исследование действие технологических факторов актуально с позиции увеличения продуктивности животных за счет снижения потерь, наносимых животноводству технологиями промышленного производства.

Особую актуальность приобретают вопросы методов эффективной коррекции технологического стресса. Смещение прооксидантно-оксидантного равновесия является одним из важнейших компонентов стресс-реакции. Многочисленные отечественные и зарубежные исследования показывают, что использование НИЛИ может вызывать положительное влияние на процессы липопероксидации в организме. Однако до настоящего времени остается открытым вопрос о технологии использования данного вида воздействия на коров, поскольку различные виды излучения и временные экспозиции оказывают порой

противоположные эффекты на различные ткани и органы организма.

Кроме того, в создании здоровых стад высокопродуктивных молочных коров большое значение имеет постоянное ветеринарное наблюдение и периодический контроль за физиологическим состоянием животных с целью ранней диагностики скрыто протекающих патологических процессов, выявления гинекологических болезней, нарушения обмена веществ и своевременного лечения. Поэтому разработка методов диагностики состояния организма так же является одной из важных задач современного животноводства.

Отдельного внимания заслуживает контроль над гемостатическими процессами, протекающими в крови и имеющими большую физиологическую значимость для обеспечения успешной гемоциркуляции, особенно в капиллярах. От состояния эритроцитов во многом зависят реологические показатели крови. Вместе с тем, несмотря на большую значимость для реологии крови контроль над составляющими основную массу форменных элементов крови – эритроцитами изучен крайне недостаточно. В этой связи возникает большая практическая потребность определения состояния эритроцитов как важного фактора, определяющего ее жидкостные свойства, в том числе при технологическом стрессе. Выяснение выраженности изменений эритроцитов при действии НИЛИ позволит разработать нормы воздействия НИЛИ при технологическом стрессе, способные послужить отправной точкой при разработке стратегии использования НИЛИ в сельском хозяйстве. В этой связи была поставлена цель работы – изучение механизмов морфо-метаболических изменений эритроцитов периферической крови коров при стрессе и действии низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) в качестве корректора функционального состояния организма животных, является актуальной, а сама исследовательская работа значимой не только в теоретических вопросах физиологии, но и в практическом плане.

Основные научные результаты, их новизна. Диссертация выстроена по традиционной схеме и содержит введение, обзор литературы, главы, посвященные описанию материалов исследования и собственных результатов, их обсуждения и заключения, выводов и практических рекомендаций, списка цитированной литературы. Работа качественно иллюстрирована – она содержит облегчающие понимание материала таблицы (20) и рисунки (11).

В работе изучено действия НИЛИ на структурно-функциональные показатели эритроцитов и физиологическое состояние организма животных при технологическом стрессе, а также выяснение закономерностей воздействия НИЛИ в активации адаптационных процессов при ответной реакции организма животных. В экспериментах доказана возможность использования лазерной модуляционной интерференционной микроскопии в качестве эффективного способа диагностики функционального состояния эритроцитов. Применение интерференционной микроскопии позволило на нефиксированных клетках проследить основные виды преобразования формы и размеров эритроцитов при стрессе в экспериментах *in vivo* - образования спикул, шероховатостей и дать им количественную оценку.

Проведение комплексной фазовой микроморфометрии эритроцитов в экспериментах *in vitro* позволило не только визуализировать модификацию клеток в режиме реального времени и провести количественную оценку состояния эритроцитов при стрессе и при действии НИЛИ, но и скоординировать морфологические изменения с окислительными процессами и метаболической активностью. Впервые с использованием интерференционной микроскопии доказано, что действие НИЛИ зависит от состояния клеток: на эритроциты, инкубированные с адреналином, действие НИЛИ было неэффективно; на фоне кортизола наблюдалось повышение адаптационных резервов клетки при действии НИЛИ. Ослабление эффектов при действии НИЛИ на фоне блокады адренорецепторов доказало возможность реализации НИЛИ через адренорецепторы и через сигнальные

пути клеток.

Эффективность действия НИЛИ на уровне клеток, выявленная в экспериментах *in vitro*, была подтверждена при технологическом стрессе у коров. Исследование *in vivo* было направлено на изучение влияния действия НИЛИ на динамику фазометрии, морфо-функциональные, электрокинетические показатели эритроцитов и лабораторно-клинические показатели организма крупного рогатого скота при технологическом стрессе.

Эксперимент проводили в строгом соблюдении требований Европейской конвенции «О защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных или иных научных целей» (Страсбург, 1986 г) и Приказа МЗ РФ № 708 Н от 28 августа 2010 г. В период исследования опытные и интактные группы животных находились в одинаковых условиях содержания, кормления и ухода. Животные были разделены на 4 группы по 12 голов в каждой. В качестве источника лазерного излучения использовался лазерный терапевтический комплекс для животных – автономный лазерный душ «МарсИК» (НПО "Петролазер", Санкт-Петербург).

В результате проделанной работы в ходе развития технологического стресса у животных были раскрыты возможности метода интерферометрии и лазерной микроскопии для количественной и качественной оценки состояния эритроцитов в динамике терапевтического действия НИЛИ (7 дней) и доказана эффективность использования НИЛИ для нивелирования стресс-реакции.

Следует отметить, что работа хорошо иллюстрирована, каждый раздел содержит обсуждение полученных результатов. Заключение имеет графическое представление предполагаемых механизмов действия НИЛИ через анализируемые физиолого-биохимические показатели, что существенным образом дополняет работу и позволяет автору представить ее в виде логически законченного экспериментального исследования.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов. Полученные автором результаты свидетельствуют об эффективности использования НИЛИ в коррекции технологического стресса у высокопродуктивных коров, что проявляется более ранним и значимым восстановлением характеристик эритроцитов, биохимических показателей крови. Данный факт отражается на восстановлении молочной продуктивности, сниженной действием технологического стресса. Необходимо учитывать, что стрессы приводят к дополнительным затратам энергии для адаптации организма к новым условиям окружающей среды, ухудшают физиологическое состояние организма, изменяют обменные процессы, вызывают отставание в росте и развитии животных, болезни и снижение продуктивности. В связи с этим, верификация возможностей использования НИЛИ направлено на разработку адаптогенной технологии с использованием физических факторов.

Получение результаты, методом интерферометрии в значительной степени дополняют традиционные биохимические и клинико-лабораторные методы исследования и сам метод обладает рядом преимуществ, расширяющих диагностические возможности. Лазерная микроскопия может быть успешно использована для получения новой информации о состоянии эритроцитов в количественном виде, что приведёт к дальнейшей объективизации лабораторно-клинических анализов крови.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Степень достоверности результатов проведенных автором исследований подтверждается воспроизводимостью экспериментальных данных, использованием корректных методов математической статистики. Результаты получены с использованием как современных высокотехнологичных методов, так и классических методов исследования на сертифицированном оборудовании. Все результаты получены автором

лично или при его непосредственном участии. Литературный обзор и обсуждение включают необходимые сведения, касающиеся работы, и дают полноценный научно-аргументированный сравнительный анализ полученных результатов. Обоснованность научных положений и выводов, сформулированных в диссертации, не вызывает сомнений.

Сведения о полноте опубликованных результатов. Ключевые результаты работы опубликованы в 15 статьях в рецензируемых научных журналах из списка ВАК и изданиях, индексируемых международными базами данных Web of Science и Scopus, а также обсуждены на 21 конференции различного уровня. По работе получен патент РФ «Способ оценки стресс-реакции организма крупного рогатого скота», что дополнительно подтверждает новизну и актуальность исследования.

Аннотация диссертации Белова А.А. соответствует основным положениям диссертации с отражением актуальности темы, научной новизны, основных результатов и их обсуждений, и выводов.

Принципиальных замечаний к содержанию работы и ее оформлению нет. При прочтении работы возникло ряд вопросов:

1). Следует отметить, что при действии НИЛИ не происходило полного восстановления морфологически измененных клеток действием технологического стресса. Как Вы можете объяснить данное явление: недостаточностью дозы или другими факторами?

2). Объясните, почему в Вашем исследовании используется НИЛИ с длиной волны 830 нм? Это обусловлено особенностями его действия на эритроциты или другими факторами?

Поставленные вопросы имеют дискуссионный характер и не снижают ценности диссертации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, диссертация Белова Андрея Александровича «Морфо-функциональные показатели эритроцитов при технологическом стрессе и коррекции состояния организма коров низкоинтенсивным лазерным излучением» представляет собой завершенную научно-квалификационную работу, выполненную на высоком методическом уровне, содержит совокупность новых научных результатов в области физиологии. Диссертация соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, а ее автор заслуживает присвоения ему ученой степени кандидата наук по научной специальности 1.5.5 – физиология человека и животных.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории доклинических исследований и моделирования биологических систем ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии» (ФГБНУ «ВНИВИПФиТ»)



Востроилова Галина Анатольевна

«10» февраля 2023 г.

Подпись Востроиловой Г. А. заверяю: Ученый секретарь ФГБНУ «ВНИВИПФиТ» Ермакова Татьяна Игоревна
«10» февраля 2023 г.



Контактные данные: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации. Адрес: ул. Ломоносова, 114б, Воронеж, 394087. Телефон: 8 (473) 253-93-07. E-mail: vnivipat@mail.ru