

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной деятельности Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского»



А.В. Кубышкин

» 02 2023 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» на диссертационную работу Белова Андрея Александровича «Морфо-функциональные показатели эритроцитов при технологическом стрессе и коррекции состояния организма коров низкоинтенсивным лазерным излучением», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук в диссертационный совет 24.2.340.06 при Нижегородском государственном университете им. Н.И. Лобачевского по научной специальности 1.5.5 – физиология человека и животных.

Актуальность диссертационного исследования

Повышение рентабельности отрасли животноводства требует глубокого изучения механизмов защитных реакций организма на многофакторные действия технологий и разработки способов коррекции негативных влияний технологических стрессов, что обеспечит повышение продуктивных возможностей животных. Пути решения этой проблемы сегодня идут в направлении изучения ответных реакций клеток на действие экзогенных и эндогенных факторов, сопровождающих развитие стресс-реакции.

В диссертационной работе предлагается исследование эритроцитов, которые играют существенную роль в реологии крови и микроциркуляции. В свою очередь, нарушение микроциркуляции наблюдается при стрессе и оказывает значительное влияние на состояние организма в целом. С другой стороны, эритроциты, вовлеченные в поддержание кислородного и метаболического гомеостаза организма, могут явиться модельной системой, удобной для проведения аналитических исследований, позволяющей оценить показатели мембран различных клеток.

Исследование эритроцитов в качестве объекта исследования позволяет проанализировать различные аспекты реализации действия физических факторов, в том числе, исследуемого в работе низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ). В настоящее время существует большое количество работ по практическому применению низкоэнергетической лазерной терапии, но относительно небольшое количество фундаментальных исследований действия НИЛИ. Актуальным остаётся изучение основных механизмов биологического действия НИЛИ. В последнее время исследователи уделяют пристальное внимание сигнальным путям, участвующим в биологических эффектах НИЛИ. В настоящее время считается, что внеклеточные стимулы вызывают клеточные реакции, такие как пролиферация, дифференцировка, апоптоз и др. через пути клеточной сигнализации. Исследование молекулярных событий, индуцированных НИЛИ, может в конечном итоге раскрыть механизмы действия НИЛИ.

Исходя из отмеченного, актуальность и важность работы обусловлена взаимосвязью фундаментальных и прикладных аспектов. В результате применения комплексного подхода, включающего современные физиологические, биохимические и морфологические методы получены приоритетные данные, имеющие важное фундаментальное, а также практическое значение как научная основа при диагностике, профилактике и прогнозировании технологического стресса, позволяющие обосновать

эффективность использования НИЛИ в нивелировании действия технологического стресса у высокопродуктивных коров.

Научная новизна работы

Впервые с использованием высокотехнологичного оборудования – лазерной модуляционной интерференционной микроскопии получены визуальные изменения морфологии эритроцитов без использования фиксирующих и другого рода кондиционирующих агентов в режиме реального времени, проведена количественная оценка морфологических показателей от структурно-функциональных параметров эритроцитов, показана зависимость фазовых характеристик эритроцитов от их метаболической активности при стрессе и действии НИЛИ.

Впервые доказано влияние НИЛИ на эритроциты через различные регуляторные системы клеток и показано включение адаптационных процессов в ответной реакции организма на воздействие НИЛИ в условиях технологического стресса.

Доказано, что непрерывный режим воздействия НИЛИ с длиной волны 830 нм 15 минут в течение 7 дней после технологического стресса эффективно влияет на показатели молочной продуктивности крупного рогатого скота и вызывает увеличение относительной доли белка, сухого вещества и лактозы в молоке.

Обнаружено проявление отдаленных эффектов действия НИЛИ в данном дизайне воздействия на повышение молочной продуктивности через месяц после воздействия.

Теоретическая и практическая значимость работы

Использование витального анализа состояния эритроцитов методом лазерной модуляционной интерференционной микроскопии в совокупности с анализом их структурно-метаболических показателей расширяет представления о механизмах ответной реакции эритроцитов на

технологический стресс и действие НИЛИ в качестве корректора функционального состояния организма животных.

Выявленный режим воздействия НИЛИ, вызывающий адаптационные реакции, способствует разработке стратегии применения НИЛИ в животноводстве при нивелировании технологического стресса.

Использование НИЛИ для предупреждения и компенсации нарушений, возникающих при технологическом стрессе у коров, позволит повысить продуктивность животноводства и снизить себестоимость продукции.

Основные результаты работы включены в соответствующие разделы спецкурсов и лекций общего курса по физиологии человека и животных, а также используются в ходе выполнения выпускных квалификационных работ студентами кафедры.

Значимость для науки и практики полученных соискателем результатов

В рамках проведенного исследования разработан подход, основанный на технологии фазометрии эритроцитов, позволяющий проводить морфологический анализ эритроцитов, который отражает функциональные характеристики клеток. Данный подход предполагает возможность оперативного скрининга состояния эритроцитов и организма в целом, и обосновывает целесообразность использования метода фазометрии эритроцитов в качестве индикатора местных и общих нарушений гомеостаза для донозологической диагностики.

Результаты исследования способствуют расширению существующих на сегодняшний день представлений о развитии стрессовой реакции и путях ее коррекции действием НИЛИ у крупного рогатого скота на системном и клеточном уровнях.

Ранняя диагностика состояния организма при технологическом стрессе и разработка эффективного, экологически безопасного метода повышения естественной резистентности животных путем использования НИЛИ имеют

первостепенное значение для сельского хозяйства и ветеринарной медицины, являются важным направлением экономики страны, ее стратегической составляющей и входят в перечень критических технологий Российской Федерации.

Диссертация содержит решение приоритетной научно-хозяйственной задачи по повышению качества молочной продукции.

Данное диссертационное исследование было поддержано грантом РФФИ.

Подтверждение основных результатов диссертации в научной печати. Основные положения диссертации опубликованы в 37 научных работах (из них 15 статей в рецензируемых научных изданиях (Web of Science, Scopus, рекомендованных Перечнем ВАК), получен патент на изобретение РФ №2732759 от 22.09.2020 «Способ оценки стресс-реакции организма крупного рогатого скота».

Анализ содержания работы

Диссертация построена по традиционному принципу и включает введение, обзор литературы, общую характеристику методов исследования, экспериментальную часть с обсуждением результатов, заключение, выводы, рекомендации производству, список литературы (312 источников из них 216 – отечественные работы). Работа общим объемом 122 листа содержит 20 таблиц и 11 рисунков.

Во **введении** автор обосновывает актуальность темы, определяет цели и задачи исследования, формулирует положения, выносимые на защиту, определяет научную новизну и практическую значимость работы.

Обсуждая построение и оформление диссертации, следует отметить четкость расстановки акцентов в обосновании актуальности темы, логичность в решении задач исследования и аргументированность положений, выносимых на защиту.

Обзор литературы изложен на 25 страницах работы, содержит 3 раздела, посвящен описанию современных данных по изучаемой проблеме и включает рассмотрение строения и метаболизма эритроцитов, основные принципы лазерной интерференционной микроскопии эритроцитов; представление о технологическом стрессе как неизбежном факторе современной технологии молочного скотоводства, а также рассмотрение природы и механизмов действия НИЛИ на биологические ткани. Каждый раздел заканчивается небольшим обобщением материала рассматриваемой части, что делает данный обзор литературы не только фактологическим, но и аналитическим.

В главе «Материалы и методы исследования» дана схема проведения исследований и полная характеристика используемых методов. Обосновано проведение экспериментов *in vitro* и *in vivo*. Исследование *in vitro* направлено на изучение действия НИЛИ на клеточном уровне через сигнальные системы клеток. Исследование *in vivo* связано с анализом состояния эритроцитов, оценкой функционального состояния организма и молочной продуктивности коров в динамике после технологического стресса. Автор демонстрирует широкий набор исследуемых методов, так и значительный объем исследуемого материала. Методы исследования современны и адекватны поставленным задачам.

Результаты диссертационной работы представлены в главе 3 и проведены в соответствии с поставленными задачами. При изучении морфо-функционального состояния эритроцитов автор использует комплексный подход, связанный с использованием метода лазерной модуляционной интерференционной микроскопии и исследованием метаболических и биохимических показателей клеток при технологическом стрессе и действии НИЛИ, что позволяет провести качественную и количественную оценку физиологического состояния нативных клеток и проследить динамику изменений этого состояния при воздействии.

Для выявления действия НИЛИ от состояния стресс-реализующих процессов проведен следующий этап работы, связанный с изучением НИЛИ в условиях влияния на эритроциты адреналина, кортизола, блокаторов адренорецепторов и глутаровой фиксации. Выявлен вклад различных структур эритроцитов при действии НИЛИ и доказано, что эффекты НИЛИ осуществляются через мембранный компонент и сигнальные пути клеток.

В следующем разделе проведено комплексное исследование закономерностей реализации взаимосвязанных процессов на уровне клеток и организма в целом при коррекции технологического стресса крупного рогатого скота НИЛИ.

Установлены молекулярно-клеточные, метаболические и системные механизмы, связанные с процессами адаптации при действии НИЛИ.

Практическим результатом данного исследования является разработка технологии использования НИЛИ для нивелирования стресс-реакции, свидетельствующая о возможности сохранения продуктивного потенциала животных действием НИЛИ.

В заключении автором полученные результаты исследования обобщены и представлены в виде схем. Схемы и текст заключения содержат краткое описание основных результатов работы, а также сигнальных путей, участвующих в реализации действия НИЛИ на эритроциты коров, которые базируются на полученных результатах. Далее подтверждена эффективность действия НИЛИ при индустриальной технологии содержания животных.

Выводы представляют собой реализацию цели исследования и его задач по существу рассматриваемой проблемы.

Достоверность полученных данных основывается на достаточном количестве экспериментов, использовании современных методов исследования. Полученные автором результаты проанализированы надежными программными статистическими алгоритмами. Материалы исследования доложены и обсуждены более чем на 20 конференциях различного уровня.

Автореферат в полной мере отражает основное содержание диссертационной работы.

Работа оставляет положительное впечатление, поскольку каждый раздел собственных исследований содержит достаточно полное обсуждение полученных результатов и имеет логический переход к следующему разделу исследований.

В качестве замечаний, вопросов и рекомендаций следует отметить:

1. В главе по исследованию действия НИЛИ *in vitro* материал представлен сразу по всем видам воздействий (адреналин, кортизол, адrenoблокаторы, глутаровая фиксация и действие НИЛИ) для каждого морфо-функционального показателя эритроцитов, что представляет сложность для восприятия информации. Однако в автореферате присутствует четкий и последовательный анализ влияния НИЛИ сначала на фоне адреналина и кортизола (основных стресс-реализующих гормонов), а затем в условиях глутаровой фиксации и использованием блокаторов α - и β -адренорецепторов, что рационализирует представление материала о вкладе различных структур эритроцитов в реализации действия НИЛИ. Поскольку выявленное положительное влияние НИЛИ на фоне кортизола является одним из основных результатов работы, хотелось бы уточнить, учитывалось ли данное положение при использовании НИЛИ в условиях технологического стресса у коров?

2. В заключении диссертации есть обобщающие схемы. Поясните, пожалуйста, рис. 10. Сигнальные пути, участвующие в реализации действия НИЛИ на эритроциты коров является авторской гипотетической схемой механизма действия НИЛИ на эритроциты коров? Кроме того, данные схемы не представлены в автореферате, однако их использование, на наш взгляд, было бы целесообразным и в автореферате для объяснения механизма действия НИЛИ на организм коров.

3. В диссертационном исследовании оценка результатов дается для «среднего животного». Такой подход позволяет выявить основные тенденции, но нивелирует индивидуально-типологические различия, однако хорошо известно, что всегда можно обнаружить особей устойчивых и сенситивных к действию различных воздействий, в том числе стресс-факторов и факторов физической природы. Типологические особенности нервной деятельности коров можно определить по комплексу признаков типа телосложения, по характеру поведенческих реакций, лактационной кривой и пр. Как Вы считаете предварительное распределение экспериментальных животных по группам с учетом их индивидуально-типологических особенностей позволило бы выявить различия в реакции на технологический стресс, НИЛИ и их комбинацию?

4. Объясните, пожалуйста, почему при использовании НИЛИ улучшаются показатели качества молока коров?

5. На основании проведенных исследований обобщите какие основные пути действия НИЛИ на эритроциты можно выделить? И можно ли их позиционировать на другие клетки организма?

Также в работе встречаются стилистические и грамматические ошибки.

Высказанные замечания не имеют принципиального характера и не снижают значимость полученных результатов.

Заключение

Диссертационная работа Белова А.А. «Морфо-функциональные показатели эритроцитов при технологическом стрессе и коррекции состояния организма коров низкоинтенсивным лазерным излучением» выполнена на актуальную тему с использованием современных методов исследования. Автором решена актуальная научно-теоретическая и научно-практическая задача, имеющая важное биологическое значение. Диссертационная работа соответствует требованиям ВАК РФ к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук в п.9 «Положения о присуждении ученых степеней»,

