

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора ветеринарных наук, профессора, члена корреспондента РАН Шкуратовой Ирины Алексеевны на диссертационную работу Ефимовой Ксении Андреевны на тему: «ДИНАМИКА КЛЕТОЧНЫХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ ТЕЛЯТ ПЕРВОГО МЕСЯЦА ЖИЗНИ В НОРМЕ И ПРИ РАЗВИТИИ БРОНХОПНЕВМОНИИ», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 06.02.01 – диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных, 03.03.01 – физиология в диссертационный совет Д 220.062.02 на базе ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет»

Актуальность темы. Одной из основных задач животноводства является выращивание здорового молодняка. В силу морфофункциональных особенностей в раннем постнатальном периоде организм новорожденного плохо приспособлен к неблагоприятным условиям окружающей среды, в связи с чем течение болезней, меры борьбы с ними имеют свои особенности. Заболеваемость и гибель молодняка от внутренних незаразных болезней, в том числе от респираторных, причиняют значительный экономический ущерб, поэтому большое значение имеют своевременная диагностика, лечение и профилактика болезней молодняка. Важную роль в диагностике заболеваний, имеет лабораторный скрининг состояния здоровья животных. Знание референсных значений биохимических показателей крови позволяет оценить, как здоровье животных, так и выявить повреждения органов и тканей при различных заболеваниях. Биохимические показатели крови телят существенно отличаются от таковых у взрослых животных. Изменения, развивающиеся в процессе неонатальной адаптации, отражают становление иммуно-метаболического профиля, который может иметь достоверные различия у здоровых животных и при развитии той или иной патологии. Значение референсных величин иммуно-биохимических показателей во многом определяется уровнем продуктивности и технологией содержания животных. Кроме того, для новорожденных телят необходимо учитывать не только их возрастную динамику, но и дифференцировать физиологические изменения, связанные с неонатальной адаптацией, от патологических, обусловленных воздействием инфекционных и неинфекционных факторов. Все выше перечисленное определяет актуальность диссертационного исследования К.А. Ефимовой.

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

положений, выводов и рекомендаций подтверждается корректностью применения, апробированного в научной практике исследовательского и аналитического аппарата. Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Воронежский государственный университет». Научно-производственный опыт выполнен на телятах красно-пестрой породы Воронежского типа в производственных условиях ООО «Воронежпищепродукт» Новоусманского района Воронежской области. Лабораторные исследования проведены в Научно-исследовательском центре клинической фармакологии и терапии, качества и безопасности сырья и продукции ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии» и на кафедре генетики, цитологии и биоинженерии медико-биологического факультета ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет».

Автором определены паттерны изменений клеточных и биохимических показателей крови у телят красно-пестрой породы в течение первого месяца жизни в условиях нормы и при развитии бронхопневмонии; фенотипы гаптоглобина и их связь с показателями лейкоцитарной формулы крови и заболеваемостью бронхопневмонией в неонатальный период. Выявлены клеточные и биохимические показатели крови, наиболее информативные для прогнозирования и ранней диагностики бронхопневмонии у телят первого месяца жизни.

Достоверность, научная новизна диссертации. Достоверность полученных результатов подтверждается использованием достаточного количества экспериментальных животных и биологического материала, утвержденных лабораторных методов исследования, адекватных поставленной цели и задачам, современных методов статистической обработки с использованием специализированных пакетов прикладных программ – Stadia 7.0 Professional (InCo, Россия) и MedCalc for Windows, version 17.5.3 (MedCalc Software, Бельгия).

Автором получены новые данные об изменении биохимических и морфологических показателей крови у здоровых новорожденных телят красно-пестрой породы и при развитии бронхопневмонии. Впервые определены фенотипы гаптоглобина, частоты их встречаемости и паттерны изменений концентрации в сыворотке крови в группах здоровых телят и предрасположенных к развитию бронхопневмонии. Установлено влияние фенотипа гаптоглобина на характер изменений лейкоцитарной формулы крови телят в первый месяц после рождения. К. А. Ефимовой предложено использование микроядерного теста для прогноза течения бронхопневмонии,

описаны паттерны изменений содержания эритроцитов с микроядрами и активности ядрышкообразующих районов в лимфоцитах периферической крови в первый месяц жизни здоровых телят и при развитии бронхопневмонии. Выявлены новые маркеры, позволяющие проводить прогнозирование и раннюю диагностику бронхопневмонии у телят в неонатальный период.

Ценность для науки и практики. Результаты диссертационного исследования К.А. Ефимовой вносят новые данные в неонатологию крупного рогатого скота и позволяют обосновать патогенетические механизмы при заболеваниях респираторной системы у продуктивных животных. На основании глубокого анализа метаболических нарушений у телят первого месяца жизни, установлены биохимические критерии и морфологические показатели крови, позволяющие верифицировать диагноз «бронхопневмония». Полученные автором результаты референсных показателей крови крупного рогатого скота красно-пестрой породы актуальны при проведении диспансеризации, а данные о связи фенотипа гаптоглобина с заболеваемостью телят бронхопневмонией могут быть использованы при селекции устойчивых к респираторным болезням животных.

Соответствие диссертационной работы специальности. Диссертационная работа Ефимовой К.А. является целостной завершенной экспериментальной научно-исследовательской работой и соответствует паспорту специальности 06.02.01 – диагностика болезней и терапия животных, онкология и морфология животных по п. 1. Общие и теоретические аспекты ветеринарной нозологии и патологии; п. 2. Вопросы клинической ветеринарии, принципы, методы и технологии обследования, общей специальной и инструментальной диагностики болезней животных, частная синдроматика (кардио-нейро-, гепато-, нефропатология, желудочно-кишечные, респираторные, репродуктивные расстройства); п. 3. Этиология, патогенез незаразных болезней, патологических и стрессовых состояний, патология обмена веществ у животных; п. 5. Особенности клинических и патоморфологических проявлений, патогенез и семиотика инфекционных инвазионных болезней животных, их значение для диагностики, дифференциальной диагностики и лечения; по специальности 03.03.01- Физиология по п. 1. Изучение закономерностей и механизмов поддержания постоянства внутренней среды организма, п. 2 Анализ механизмов нервной и гуморальной регуляции, генетических, молекулярных, биохимических процессов, определяющих динамику и взаимодействие физиологических функций, п. 3. Исследование закономерностей функционирования основных

систем организма (нервной, иммунной, сенсорной, двигательной, крови, кровообращения, лимфообращения, дыхания, выделения, пищеварения, размножения, внутренней секреции и др.)

Оценка оформления, содержания и завершенности работы.

Диссертационная работа К.А. Ефимовой написана по традиционной схеме и включает в себя: введение, анализ литературы и обоснование выбранного направления исследований, материалы и методы исследований, результаты собственных исследований и их анализ, заключение, выводы, практические предложения, список литературы, приложения. Диссертационная работа изложена на 170 страницах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, рекомендаций и перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. Список литературы содержит 276 источников, в том числе 143 зарубежных. Иллюстративный материал включает 45 рисунков и 13 таблиц.

Во введении обоснована актуальность темы, цель и задачи исследований, степень разработанности проблемы, научная новизна и практическая значимость работы, основные научные положения, выносимые на защиту, степень достоверности и реализация результатов исследования, а также представлены сведения о публикациях результатов исследований, объеме и структуре диссертации.

В обзоре литературы, изложенном на 43 страницах, подробно описаны данные об особенностях минерального, углеводного, белкового обмена у телят. Достаточно глубоко проанализированы литературные данные по ферментному статусу крови, который во многом определяется генетическим потенциалом родителей и породной принадлежностью животных. Показана роль гаптоглобина в контроле местных воспалительных процессов. Раскрыты вопросы возрастной динамики гематологических показателей у телят. Приведены литературные данные о транскрипционно активных ядрышкообразующих районах хромосом в лимфоцитах периферической крови и микроядрах в эритроцитах. Обзор написан хорошим литературным языком.

В главе 2 «Собственные исследования», изложенной на 66 страницах, представлены «Материалы и методы исследования» и подробно описан весь ход экспериментальной работы.

Автором подробно изучены особенности минерального, углеводного, белкового обмена, изменения активности ферментов сыворотки крови, концентрация и фенотипы гаптоглобина, изменения клеточных показателей крови, в том числе микроядерные эритроциты и активность

ядрышкообразующих районов в лимфоцитах у здоровых и заболевших бронхопневмонией телят. Исследования были проведены в первый, седьмой, четырнадцатый и двадцать восьмой день.

Установлено, что при бронхопневмонии происходит плавное снижение содержания в крови магния, но в целом минеральный обмен у телят первого месяца жизни характеризуется стабильностью и не имеет существенных различий у здоровых и заболевших бронхопневмонией животных.

Уровень глюкозы в крови телят в этот период непрерывно снижается, достигая стабильности к 28 дню. К.А. Ефимова убедительно доказала, что при развитии легочных заболеваний у телят концентрация глюкозы в крови ниже физиологических значений. Гипогликемия сопровождается повышением уровня пирувата и снижением лактата. Соотношение «лактат:пируват» опускается ниже референсных значений. Повышение концентрации пирувата в первые сутки можно рассматривать как ранний предиктор развития бронхопневмонии.

Автором не выявлено достоверных различий по концентрации общего белка в сыворотке крови у оставшихся здоровыми и заболевших бронхопневмонией телят. Установлено повышение содержания общих иммуноглобулинов в сыворотке крови в течение первого месяца жизни у животных обеих групп. У здоровых особей на 7...14-е сутки отмечалась тенденция к росту показателя, а достоверное его повышение происходило на 28-е сутки жизни. У животных, впоследствии заболевших бронхопневмонией, к 14-м суткам отмечалась тенденция к снижению концентрации общих иммуноглобулинов, но к 28-м суткам, при разгаре болезни, показатель восстанавливался до уровня здоровых животных, вероятно, за счет активации синтеза антител. Период с 14 по 28 день можно рассматривать как «критический» в становлении белкового гомеостаза у телят, поскольку в это время происходит полное переключение метаболизма с использования «материнских» белков, синтезированных во внутриутробный период или полученных с молозивом, на синтез организмом «собственных» белков. Зрелость клеточных белоксинтезирующих систем в этот период определяет состояние здоровья животного.

По мнению автора, становление ферментативной активности крови новорожденных телят обусловлено физиологическими процессами и не зависит от заболеваемости бронхопневмонией.

Установлено, что концентрация гаптоглобина в сыворотке крови у здоровых телят существенно не изменяется в течение первого месяца жизни. При заболевании бронхопневмонией этот показатель на 14-е сутки снижается на 46,2 %, а на 28-е сутки (при разгаре болезни) повышается до исходного

уровня. Методом электрофореза были идентифицированы фенотипы гаптоглобина Нр2-2 и Нр2-1. Нр2-2 определен у 56,7 % обследованных телят; Нр2-1 – у 33,3 %; у 10,0 % не выявлено фракций белка, обладающих пероксидазной активностью. Среди здоровых телят Нр2-2 идентифицирован у 47,9 % особей, Нр2-1 – у 39,1 %, неопределенный фенотип (предположительно – Нр1-1) – у 13,0 %. Среди заболевших бронхопневмонией 85,7 % телят были носителями фенотипа Нр2-2, 14,3 % особей – Нр2-1. Таким образом, среди телят, заболевших бронхопневмонией в первый месяц жизни, фенотип гаптоглобина Нр2-2 встречался в 1,79 раза чаще, чем у особей, оставшихся здоровыми в этот период.

Автором установлено, что в первые 28 дней жизни лейкоцитарная формула крови у телят претерпевает характерные изменения: снижается число палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов и возрастает доля лимфоцитов. При развитии бронхопневмонии у телят относительное содержание сегментоядерных нейтрофилов в крови превышает 13 %, а лимфоцитов – опускается ниже 80 %. У телят с фенотипом гаптоглобина Нр2-2 в первый месяц жизни показатели лейкоцитарной формулы крови характеризуются более высокой вариабельностью по сравнению с животными с фенотипом Нр2-1.

Активность ядрышкообразующих районов в лимфоцитах периферической крови у животных, больных бронхопневмонией, на 11,5 % превышает аналогичный показатель у здоровых особей. Доля эритроцитов с микроядрами в крови у здоровых телят красно-пестрой породы в 1-суточном возрасте составляла $1,1 \pm 0,2$ ‰, а к 28-м суткам снижалась до $0,7 \pm 0,1$ ‰. У телят, впоследствии заболевших бронхопневмонией, максимальное число эритроцитов с микроядрами отмечено на 7-е сутки жизни, а в разгар болезни к 28 дню их количество снижается. Убедительно доказано, что показатель численности клеток, содержащих микроядра возможно применять для ранней диагностики воспалительных заболеваний в качестве дополнительного критерия.

На основании проведенных исследований установлено, что предикторами бронхопневмонии у телят являются повышенная концентрация пировиноградной кислоты в крови (более 215 мкмоль/л) через 24 часа после рождения, пониженное относительное содержание моноцитов в крови (менее 1,25 %) на 7-е сутки и концентрация гаптоглобина в сыворотке крови (менее 3,5 г/л) на 14-е сутки жизни. С целью прогнозирования развития бронхопневмонии у новорожденных телят через 24 часа после рождения рекомендовано определять данные показатели.

Грамотное толкование полученных результатов придает исследованиям завершенный характер, свидетельствует об их полноте и научной обоснованности, профессиональной зрелости соискателя. Материалы диссертационной работы рекомендуется использовать и внедрять в лабораторную практику, при преподавании дисциплины «Внутренние незаразные болезни», а также при проведении научных исследований.

Работа прошла широкую апробацию, результаты доложены на конференциях разного уровня. По материалам диссертации опубликовано 11 научных работ, в которых отражены основные положения диссертации, в том числе 4 из них в рецензируемых научных журналах, рекомендованных перечнем ВАК РФ, 2 в изданиях, включенных в международную базу данных WOS, Scopus.

Автореферат отражает основное содержание диссертации.

При общей положительной оценке диссертационной работы К. А. Ефимовой возник ряд вопросов, на которые хотелось бы получить дополнительные разъяснения автора:

1. На какой день жизни телята заболели бронхопневмонией, и какова была продолжительность заболевания?
2. Какие выявлены основные этиологические факторы?
3. Какую форму бронхопневмонии Вы диагностировали?
4. На стр. 55 Вы указываете что «поражение легких по данным торакальной ультрасонографии оценивалось в 3 балла и более». Каким аппаратом, и в каком режиме проводилось исследование? Надо было приложить данные сонограммы.
5. Известно, что синтез гаптоглобина стимулируется (посредством цитокинов) воспалением, поясните, пожалуйста, чем обусловлено существенное (на 46,2%) снижение уровня гаптоглобина на 14 день у телят больных бронхопневмонией?
6. Какие методы профилактики бронхопневмонии Вы можете предложить на основании проведенных исследований?

Заключение

Диссертационная работа Ефимовой Ксении Андреевны на тему: «ДИНАМИКА КЛЕТОЧНЫХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ ТЕЛЯТ ПЕРВОГО МЕСЯЦА ЖИЗНИ В НОРМЕ И ПРИ РАЗВИТИИ БРОНХОПНЕВМОНИИ», представляет собой самостоятельную, законченную научно-квалификационную работу, содержащую новое решение актуальной научной проблемы респираторных болезней телят.

Диссертация соответствует требованиям п. 9 «Положение о присуждении ученых степеней» (в ред. Постановления Правительства РФ № 842 от 11.09.2021 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а также паспорту специальности 06.02.01 – диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных и 03.03.01 - физиология.

На основании выше изложенного, можно заключить, что Ефимова Ксения Андреевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 06.02.01 – диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных, 03.03.01 - физиология.

Официальный оппонент:

доктор ветеринарных наук, профессор,

член-корреспондент РАН

руководитель Уральского научно-исследовательского

ветеринарного института – структурного подразделения

ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный

научно-исследовательский центр УрО РАН»

19.11.2021 г.

Шкуратова Ирина Алексеевна

подпись Шкуратовой Ирины Алексеевны заверяю

главный ученый секретарь ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН

доктор ветеринарных наук



Соколова Ольга Васильевна

Шкуратова Ирина Алексеевна.

Уральский научно-исследовательский ветеринарный институт – структурное подразделение ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр УрО РАН»

620141 г. Екатеринбург, улица Белинского 112 а

тел. (343) 257 20 44

www.urnivi.ru

e mail info@urnivi.ru