

## **О Т З Ы В**

первого официального оппонента

на диссертацию **МОРОЗОВОЙ ОЛЬГИ ВЛАДИМИРОВНЫ**

«Функциональное состояние Т-лимфоцитов в оценке стад крупного рогатого скота при лейкозе», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

### **1. АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ ДИССЕРТАЦИИ**

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт бруцеллеза и туберкулеза животных».

Лейкоз крупного рогатого скота получил широкое распространение в большинстве субъектов РФ и прочно занимает в структуре инфекционной патологии, в том числе в сельхозпредприятиях Кемеровской области, и является сдерживающим фактором развития отрасли животноводства АПК.

Болезнь представляет реальную угрозу для племенного животноводства, животноводческих комплексов промышленного типа и личных подворий граждан. Отсутствие вакцины, сыворотки, противолейкозных препаратов, эффективных ветеринарно-технологических систем борьбы, средств специфической профилактики, способствует широкому распространению болезни и имеют как экономическую, так и социальную значимость.

Следует отметить, что при определенном уровне познания теоретического и прикладного характера о такой инфекционной патологии как лейкоз крупного рогатого скота, много не изученного остается в области познания иммунологических аспектов в развитии лейкозного процесса, особенно клеточной системы Т-лимфоцитов. Степень разработанности этого направления часто носит противоречивый характер при изучении инфекции ВЛКРС.

Не достаточно изученным на молекулярном уровне остается феномен латентного вирусносительства а также фрагментарных цитогенетических изменений или нарушений на уровне лимфоцитов. Все это предопределяет актуальность темы представленной диссертационной работы, способствует в перспективе дальнейшему изучению иммунопатогенеза лейкоза крупного рогатого скота, поставленных в целом задач и имеет научную, и практическую значимость.

Цель и задачи исследований состояла в изучении особенностей функционального состояния Т-лимфоцитов у крупного рогатого скота с разной степенью компрометации к лейкозу и испытания эффективности иммунологических методов в оценке стад при данной инфекционной патологии.

## **2. СТЕПЕНЬ ОБОСНОВАННОСТИ НАУЧНЫХ ПОЛОЖЕНИЙ, ВЫВОДОВ И РЕКОМЕНДАЦИЙ, СФОРМУЛИРОВАННЫХ В ДИССЕРТАЦИИ**

Изучение проблемы лейкоза крупного рогатого скота в субъектах РФ, в том числе в Кемеровской области, свидетельствует о том, что за определенный период времени ветеринарной наукой и практикой достигнуты успехи в изучении этиологии, выявлены пути передачи вирусной инфекции, установлены и раскрыты некоторые особенности развития инфекционного и эпизоотического процесса, определена роль отдельных экологических факторов и наследственной предрасположенности к лейкозу.

В представленном диссертационном материале, автором разработаны и испытаны методы иммунологического направления по изучению функционального состояния Т-лимфоцитов при оценке стад крупного рогатого скота при лейкозе. Изучена чувствительность к левамизолу у крупного рогатого скота разных возрастных групп из благополучного и неблагополучного по лейкозу стаду.

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт бруцеллеза и туберкулеза животных».

Обоснованность и целесообразность темы диссертационной работы представленной к защите, определяется необходимостью принятия решений относительно сложной эпизоотической ситуацией по лейкозу крупного рогатого скота в сельхозпредприятиях Кемеровской областях. Все это предопределяет необходимость поиска новых модернизированных, экспериментальных и эффективных методов в оценке благополучия и неблагополучия стад крупного рогатого скота по инфекции и лейкозу.

Для проведения научных лабораторных исследований на лейкоз, в течение 7-и лет было исследовано и выявлено свыше 143 тыс. животных-вирусоносителей. Наибольший процент носителей ВЛКРС выявлен среди телок перед случкой (14,3%), от стада. Меньший показатель – среди телок 6-12 мес. (9,6%). Кроме того, за период исследовательской работы были проведены 297377 животных, по результатам которых выявлено 4625 гол. крупного рогатого скота, находящегося в гематологической стадии заболевания. Все это отражает эпизоотическую ситуацию и доказывает объективность степени обоснованности и достоверности полученных результатов.

### **3. ДОСТОВЕРНОСТЬ И НОВИЗНА ВЫВОДОВ И РЕЗУЛЬТАТОВ ДИССЕРТАЦИИ**

Объективность оценки предусматривает отражение как положительных, так и отрицательных сторон выполненной работы. Достоверность результатов подтверждается большим объемом эпизоотологических исследований, проведенных в лабораторных и производственных условиях в динамике с 2011 по 2014гг. с применением современных методов оценки иммунного статуса, математической обработки цифрового материала на персонально компьютере с использованием стандартных программ, а также регрессивного

дискретно-динамического анализа. Степень достоверности полученных показателей является объективная оценка путем сравнения величин вариационных рядов с помощью критерия Стьюдента.

Изучена степень распространения лейкоза крупного рогатого скота в хозяйствах Кемеровской области. Показана динамика эпизоотической ситуации по инфекции ВЛКРС лейкозу.

Впервые установлена зависимость изменения уровня экспрессии рецепторов к эритроцитам барана на поверхности мембран Т-лимфоцитов крупного рогатого скота от содержания левамизола в инкубационной среде. Доказано, что левамизол в конечной концентрации оказывает иммунокорректирующее действие на экспрессию рецепторов в конечной концентрации 0,5 мкг. мл. и действие рецепторов к эритроцитам барана.

Научная новизна исследований подтверждена патентом РФ «Способ диагностики лейкоза крупного рогатого скота» от 27.10. 2012г.

Теоретическая и практическая значимость выполненной работы, расширяют современные представления об особенностях изменения функционального состояния Т-лимфоцитов у крупного рогатого скота, инфицированного ВЛКРС и больного лейкозом. Методологические подходы (методы) исследования в большей степени ориентированы на экспериментальную и научную часть в соответствии с тематическим планом НИР.

#### **4. ЦЕННОСТЬ ДЛЯ НАУКИ И ПРАКТИКИ ПРОВЕДЕННОЙ СОИСКАТЕЛЕМ РАБОТЫ**

Относительно научной новизны необходимо отметить, что перечень неблагополучных хозяйств и уровень распространенности лейкоза крупного рогатого скота не является научной новизной, как и динамика эпизоотической ситуации. Понятие интенсивного и экстенсивного распространения болезни, могут быть предметом известного эпизоотологического познания.

В каком формате и как расширяется и углубляется современные представления об особенностях изменения функционального состояния Т-лимфоцитов у крупного рогатого скота?

Какая составляющая часть выполненной экспериментальной работы была использована на базе исследовательских работ в разделе методология?

Оппонентам представлена теоретическая и практическая значимость работы, которая заключается в изучении особенностей функционального состояния Т-лимфоцитов у КРС с разной степенью компрометации к лейкозу, и испытание эффективности иммунологических методов в оценке. По результатам полученных экспериментальных исследований относительно функционального состояния особенностей Т-лимфоцитов у крупного рогатого скота, установлена концентрационная зависимость изменения уровня экспрессии рецепторов к эритроцитам барана на поверхности мембран Т-лимфоцитов крупного рогатого скота от содержания левамизола в инкубационной среде.

Показано, что левамизол в конечной концентрации 0.5 мкг/мл оказывает иммунокорригирующее действие на экспрессию рецепторов к эритроцитам барана Т-клетками, проявляющиеся в увеличении данного показателя у животных с нарушением Т-системы иммунитета.

Относительно методологии и методов исследований следует сказать, что они имеют теоретический, познавательный характер и могут быть использованы в условиях теоретических и практических направлениях и познаний.

## **5. ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ДИССЕРТАЦИИ**

Выполненная научно-исследовательская работа является полным завершённым научно-исследовательским трудом и заслуживает положительной оценки. Положительная оценка диссертационной работы обоснована результатами проведенной научно-исследовательской многофакторной работы.

Изучена эпизоотическая ситуация по лейкозу в сельхозпредприятиях районов Кемеровской области. Установлено, что уровень инфицированности крупного рогатого скота в представленном субъекте за период 2007-2013 гг., равномерно снижается. С помощью проведения диагностических исследований на лейкоз, с применением серологических и гематологических методов за 7 лет было выявлено свыше 143 тыс. животных-вирусоносителей. По результатам диагностических исследований инфицированность ВЛКРС в Кемеровской области равномерно и последовательно снижается. Степень инфицированности животных в среднем за семь лет превысила не более 10% в 10-ти районах Кемеровской области, а степень гематологического проявления болезни в 6-ти районах.

Изучение чувствительности лимфоцитов к реакции спонтанного розеткообразования к левамизалу, показало иммунокорректирующее действие на экспрессию рецепторов к эритроцитам барана Т-клетками у носителей ВЛКРС и больных лейкозом животных. Этот эффект проявлялся только при конечной, минимальной концентрации 0,5 мкг/мл.

Установлено, что повышенный уровень ЦИК сочетается с усиленной функциональной активностью лейкоцитов с тест нитросиним тетразолием (НСТ-тест) у 31,25% носителей ВЛКРС и 44,4% больных лейкозом животных. Снижение числа гранулоцитов способных восстанавливать НСТ, автор подтверждает тем, что у 33% больных лейкозом животных при одновременном увеличении ЦИК и участии иммунных комплексов в механизме прогрессирования заболевания лейкозом.

Содержание количества Т-лимфоцитов в периферической крови телят в возрасте до 2-х мес. из благополучного по лейкозу хозяйства, составило 34,26% лимфоцитов, у молодняка в возрасте 12 мес. Их количество существенно уменьшается до 19,2% и сохраняется на этом уровне в последующие

сроки исследования. Повышенная чувствительность к левомизолу была выявлена у 5% молодняка и у животных 17-18-ти месячного возраста.

Индекс сдвига определяемый как отношение Е-РОК (реакция спонтанного розеткообразования с эритроцитами барана), регистрируемый как отношение процента Е-РОК и инкубации с левамизолом к числу Е-РОК до обработки препаратом, является критерием, способствующим выявлению животных с дефицитом Т клеток, и позволяющий выделению животных блокадой поверхностных маркеров, а у особей с предрасположенностью показателей к заболеванию лейкозом.

Снижение в крови Т-лимфоцитов у молодняка крупного рогатого скота в возрасте 5-6-ти мес. неблагополучного по лейкозу стада, сопровождается увеличением числа левамизолчувствительных лимфоцитов с максимальной выраженностью при наиболее значительном дефекте Т-клеток.

Признаки блокады выявлены у 100% молодняка 17-18-ти месячного возраста; у 84% коров, имеющих положительную реакцию в РИД, а также у 36,4-41,2% отрицательно реагирующих животных этих же возрастных групп.

Таким образом, анализ результатов серологических и гематологических исследований, проведенных на территории Кемеровской области в период 2007 по 2013гг., показал относительно сложную эпизоотическую ситуацию по представленной инфекционной патологии.

Относительно замечаний по оформлению диссертации и ее завершенности, следует отметить слишком большой объем списка используемой литературы от 16-ти до 52стр. в том числе 140 отечественных и 82 зарубежных источников.

Сложно воспринимается емкое изложение цели и задач исследований, представленных в данной работе. Слишком объемные и не всегда корректно

изложенные выводы №2; №3 и №6.. Затруднен анализ их изложения и интерпретации.

## **6. ПОДТВЕРЖДЕНИЕ ОПУБЛИКОВАНИЯ ОСНОВНЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ В НАУЧНОЙ ПЕЧАТИ**

По материалам диссертационной работы опубликовано 8 научных работ, в том числе 2 в изданиях рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ для публикации материалов диссертационных работ («Ветеринарный врач», «Вестник ветеринарии»), методическое пособие и патент РФ на изобретение.

## **7. СООТВЕТСТВИЕ СОДЕРЖАНИЯ АВТОРЕФЕРАТА ОСНОВНЫМ ПОЛОЖЕНИЯМ ДИССЕРТАЦИИ**

Автореферат соответствует содержанию основным установленным положениям диссертационной работы, такими как степень разработанности, изучения иммунологических аспектов при инфекции ВЛКРС и лейкозе крупного рогатого скот, и важной роли иммунных механизмов в развитии лейкозного процесса, особенно параметров клеточной системы Т-лимфоцитов.

## **8. ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Содержание диссертации соответствует научной новизне и практической значимости. В диссертационной работе освещаются результаты изучения исследований иммунологических аспектов при инфекции ВЛКРС и лейкозе крупного рогатого скота в развитии лейкозного процесса, и параметров клеточной системы; изучение иммунологических механизмов, способствующих возникновению прогрессирования болезни.

Диссертационная работа выполнена на достаточно высоком методическом и техническом уровне с использованием современных методов диагностики. Научная работа отвечает п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», М., 2013г., предъявляемых к кандидатским диссертациям,

а ее автор достоин присуждения ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02-ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология микология с микотоксикологией и иммунология.

Официальный оппонент:

доктор ветеринарных наук, профессор,

заведующий лабораторией лейкоза ФГБНУ ИЭВСидВ

 Храмцов Виктор Викторович.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока» (ФГБНУ ИЭВСидВ).

Почтовый адрес: 630501, Новосибирская область, Новосибирский район, р.п. Краснообск, а/я 8, телефон: 348-44-62; E-mail: email:referent@ievsv.ru.

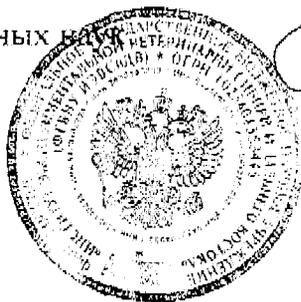
Сайт WWW.ievsv.ru.

24.02.2016г.

Подпись заверяю:

ученый секретарь ФГБНУ ИЭВСидВ

кандидат ветеринарных наук





Стеблева Г.М.