

ВІДГУК
офіційного опонента
на дисертацію Луценка Дмитра Григоровича
«Стан мікрогемодинамічної системи та вегетативної регуляції
серцевого ритму щурів в умовах різних режимів холодової
акліматизації», поданої до спеціалізованої вченої ради Д 64.242.01 в
Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України на
здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук
за спеціальністю 03.00.19 – кріобіологія

Актуальність теми дисертаційного дослідження.

Однією з важливих проблем сучасної біології є розробка й впровадження методик, які надають можливість підвищувати адаптивні можливості організму в несприятливих умовах зовнішнього середовища. Серед цих методик слід, насамперед, відзначити вплив низьких температур. У відповідь на зміну температурного режиму в організмі ініціюються пристосувальні реакції, пов'язані з перебудовою в центральній нервовій і кровотворній системах, які підтримують гомеостаз і регулюють метаболічні процеси в тканинах і клітинах. Серцево-судинна система є ключовою в ланці відповіді на холодове навантаження. Проблемі використання кріогенних тренувань для активації захисних систем організму і присвячена кваліфікаційна робота Луценка Д.Г. Її актуальність обумовлена декількома причинами. По перше, хоча на теперішній час накопичено багато наукових даних які стосуються дослідження механізмів впливу холодового навантаження (насамперед, це роботи Інституту проблем кріобіології та кріомедицини НАН України) проте, залишається ще багато питань, пов'язаних із вивченням конкретних шляхів передання холодового сигналу залежних від терміну та способу кріотренування. По друге, більшість досліджень структурно-функціональних властивостей біосистем різного рівня організації під дією низьких температур були проведені при

довготривалому навантаженні. При цьому дія короточасних впливів практично не вивчалась, хоча й доказана їх ефективність. Залишається також відкритим питання про те, яким чином низькотемпературне навантаження поверхні тіла трансформується в зміни фізіологічних показників організму в цілому. Зважаючи на це, робота Луценка Д.Г. по вивченню впливів різних типів холодового навантаження на серцево-судинну систему є безумовно актуальною.

Зв'язок роботи з державними та галузевими програмами.

Робота виконана в рамках відомчих НДР відділу кріофізіології Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України № 29 «Фізіологічні і патофізіологічні механізми дії низьких температур на стан центральної нервової, серцево-судинної та ендокринної систем у тварин різних вікових груп» (шифр – 2.2.6.29, № державної реєстрації 0106U002162); № 63 «Особливості фізіологічних і патофізіологічних механізмів регуляції гомеостазу організму гомойо- і гетеротермних тварин при різних видах охолодження» (шифр – 2.2.6.63, № державної реєстрації 0111U001195).

Наукова новизна одержаних результатів полягає в тому, що автором виявлено різні стратегії пристосування серцево-судинної системи щурів до холодового навантаження залежно від тривалості і періодичності надання низькотемпературного стимулу, що проявляється в перерозподілі діаметрів судинної системи. В роботі також встановлено, що характер адаптивної відповіді суттєво залежить від вегетативного статусу. Цей ефект вказує на важливість попереднього аналізу вихідного рівня показників варіабельності серцевого ритму для прогнозування результатів холодової аклімації.

В роботі встановлено, що при тривалих режимах кріогенних тренувань, як неперервних, так і ритмічних, спостерігається значуща зміна концентрації метаболітів оксиду азоту в сироватці крові. Цей феномен має тканинну специфічність.

Практичне значення одержаних результатів полягає в тому, що одержані дані можна розглядати як підтвердження гіпотези про залучення

різних фізіологічних механізмів для забезпечення сталої адаптації організму до холоду. Крім того встановлена важливість попереднього аналізу вихідного рівня стану вегетативної регуляції організму для прогнозування розвитку адаптації до холоду. Виявлене в дослідженні значуще підвищення адаптаційних здібностей після РХА доводить доцільність використання ритмічних режимів холодової аклімації для пристосування теплокровних тварин і людини до дії низьких температур. Отримані дані щодо формування холодової адаптації організму теплокровних тварин можуть бути використані в освітніх програмах кафедри фізіології людини та тварин на біологічному факультеті Харківського національного університету ім. В.Н.Каразіна.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Робота Луценка Д.Г. виконана на високому методичному рівні. Достовірність отриманих результатів забезпечується використанням сучасних гістологічних і фізіолого-біохімічних методів, які відповідають меті та задачам роботи, а також адекватними методами статистичної обробки. В роботі використано сучасну апаратуру, яка пройшла метрологічний контроль. Результати дисертації цілком переконливі, їх достовірність не викликає сумнівів. Наукові положення та висновки роботи достатньою мірою узагальнюють сутність отриманих результатів та відповідають на питання, що сформульовані в задачах дослідження, є цілком обґрунтованими та вірогідними

Обсяг і структура дисертації

Дисертація викладена за традиційною схемою на 212 сторінках машинописного тексту та складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження 4 розділів власних досліджень та їх обговорення, загальних висновків, списку використаних джерел та 2 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 128 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 19 таблицями, 23 рисунками, з яких 12 мікрофотографії. Список використаних джерел містить 555 найменувань.

Текст дисертації, як за змістом, так і редакційно викладено та оформлено здобувачем якісно, назва роботи повністю відповідає меті та основному змісту дисертації.

У **вступі** автор обґрунтовує актуальність досліджуваної проблеми, формулює мету, завдання та методи дослідження, визначає наукову новизну і практичне значення отриманих результатів.

Розділ 1 (огляд літератури) написано з урахуванням сучасних наукових даних. Надається детальна інформація стосовно змін серцево-судинної системи в умовах холодного навантаження. Приділяється особлива увага історичному ходу вивчення цього питання. Висвітлено особливості стадійності стресорної реакції залежно від адаптаційного стану організму. Проаналізовано інформацію стосовно можливих шляхів холодової аклімації. Окремо висвітлені види кріогенних навантажень, які можна вважати моделями пристосування тварин до холоду. Слід відзначити, що особливу увагу автор присвячує розгляданню питання щодо значення серцево-судинної системи і системи крові в адаптивній відповіді організму.

У **розділі 2 (матеріали та методи дослідження)** наведено опис схем експериментів із загальною характеристикою об'єктів дослідження. Детально описані застосовані методи дослідження: загально біологічні (вимірювання маси і поверхневої та ректальної температури тіла), клітинні (оцінка лейкоцитарної формули крові, осмотичної крихкості еритроцитів та індексу сферичності), мікроскопічні (метод прижиттєвої контактної біомікроскопії судин мікрогемодинамічного русла з використанням цифрової обробки та фіксації), електрофізіологічні (метод ВСР), поведінкові (тест вимушеного плавання в холодній воді) та біохімічні (оцінка NO непрямим методом з використанням реакції Гресса). Вірогідність отриманих результатів та висновків роботи підтверджуються статистичною обробкою.

Розділ 3 (результати та обговорення) містить чотири підрозділи, де описані усі результати даного дослідження, отримані при виконанні поставлених завдань.

Здобувачем було доведено, що при неперервній холодовій аклімації (НХА) температура знижується, але потім повертається до контрольних значень. Тест вимушеного плавання довів, що в умовах холодого навантаження відбувається процес пристосування до стимулу, але в умовах ритмічних холодих впливів цей ефект найбільш виразний.

Ефект ритмічності кріогенного навантаження також викликає і різні стратегії пристосування мікрогемодинамічного русла шкіри та м'язів. Показано, що суттєві зміни спостерігаються після НХА, в той час як при ритмічній холодовій аклімації (РХА) така динаміка не спостерігається. Характер змін судин головного мозку свідчить, що в умовах НХА ефект подібний до гострого холодого навантаження, однак в умовах РХА таких ефектів виявлено не було.

В ході експерименту доведено, що динаміка показників ВСР при холодовій аклімації залежить від вихідного рівня вегетативної регуляції серцевого ритму. Тварини з різним вихідним рівнем ТР при аклімації до холоду реалізують різні стратегії вегетативної регуляції, які відрізняються за ступенем залучення симпатичної і парасимпатичної ланок ВНС. При початково високому значенні ТР у тварин адаптація до холоду реалізовувалася переважно за рахунок активації симпатичної регуляції, а у тварин, які мали вихідні низькі значення ТР – активувалися і симпатична і парасимпатична ланки ВНС.

Встановлено, що ритмічність холодової аклімації не впливає на відмінності в показниках осмотичної крихкості еритроцитів відносно контрольних тварин. Але графіки осмотичної крихкості після цих двох видів аклімації були зміщені у різні сторони. При цьому доведено, що найбільше змін у популяційному складі еритроцитів спостерігалось після НХА ніж пр. РХА. НХА приводить до збільшення кількості сфероцитів і дискоцитів та зменшення кількості стоматоцитів. Після РХА спостерігалось збільшення кількості сфероцитів і зменшення кількості дискоцитів, а кількість стоматоцитів значущо не змінювалася. При аналізі лейкоцитарної формули

встановлено, що під час РХА спостерігається переважання стану спокійною активації, а в умовах НХА – стану підвищеної активації.

В ході дослідження доведено, що при тривалих режимах холодової аклімації спостерігається зниження концентрації метаболітів оксиду азоту в сироватці крові. НХА викликає значне підвищення рівня метаболітів NO в міокарді щурів, а РХА – зниження їх рівня в корі головного мозку.

Автор формулює шість висновків, які загалом відображають сутність отриманих результатів і відповідають поставленим завданням.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих наукових працях та авторефераті. Автореферат відображає основний зміст дисертації, основні положення якої повністю викладені у 37 надрукованих працях, серед яких 8 статей (6 статей у виданнях, які входять до переліку наукових фахових видань України, 3 статті у виданнях, що входять до міжнародних наукометричних баз (Scopus)) журналі) та 35 тез доповідей в збірниках матеріалів вітчизняних та міжнародних з'їздів і конференцій.

Зауваження що стосуються оформлення та змісту дисертації та автореферату.

Принципових недоліків у роботі мною не виявлено, але є низка питань дискусійного характеру. Разом із тим, відзначаючи високий науковий та методичний рівень дисертаційної роботи, доречно зробити деякі зауваження:

1 У розділі **Анотація**: на стор 5. у реченні «Серед тварин, що потрапили до цієї групи, в початковому стані у 40% щурів відзначалося значне переважання LF, і після проведення аклімації таке переважання LF також відзначалося у 40% тварин, але тепер ці значення зовсім ненабагато перевищували одиницю» можливо технічна помилка і мається на увазі співвідношення LF/HF.

2. У розділі **1.2** автор цілком доцільно розглядає ідентичність понять «аклімація» та «акліматизація». В подальшому у більшості тексту оперує

поняттям аклімація, але в деяких місцях (стор. 40, 45, 87) повертається до терміну акліматизація.

3. У розділі **1.4** автор використовує по відношенню до капілярів терміни «закритими», та «функціонуючими». На нашу думку така термінологія дозволяє припустити, що «закриті» капіляри зовсім не функціонують, але функції капілярів не обмежуються лише кровотоком. Можливо, краще використовувати в цьому випадку терміни «закриті», «відкриті», але це – дискусійне питання.

На стор 60 термін «фотографія» краще замінити на «світлина».

4. У розділі **2.4** на малюнку 2.1 та 2.4 позначення важко побачити.

5. у розділі **2.7** швидкість центрифугування більш коректно наводити в одиницях G.

6. У розділі **3.3** з'являється група 4, про яку в розділі 2 немає ніяких свідчень. Текст на стор. 90 не співпадає з даними таблиці 3.5 «в той час, як у контролі він залишався практично на тому ж рівні (123,3%) у порівнянні з попередніми значеннями. У той же час спостерігалось незначне підвищення тривалості плавання в групі 3» краще в цьому випадку використовувати термін тенденція до підвищення.

7. Викликає подив, що в різних підрозділах глав **4, 5 та 6** кількість тварин, їх вік та маси в досліджених групах різні.

8. У розділі **6** назви малюнків 6.1, 6.2 починаються з назви Графіки. Краще цей термін замінити на Динаміка.

Слід зазначити, що окремі зауваження не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційного дослідження, а зауваження, що виникли до роботи носять здебільшого дискусійний характер.

Висновок про відповідність

В цілому кваліфікаційна наукова робота Луценка Д.Г. є завершеною науковою працею і відповідає паспорту спеціальності 03.00.19 – кріобіологія. Зважаючи на актуальність і перспективність тематики дисертаційної роботи, наукову новизну отриманих автором результатів, теоретичне і практичне

значення, зв'язок із науковими програмами і темами та широко висвітлення результатів у вітчизняній і зарубіжній літературі, їх обговорення на міжнародних конференціях та з'їздах вважаю, що дисертація Луценка Дмитра Григоровича «Стан мікрогемодинамічної системи та вегетативної регуляції серцевого ритму щурів в умовах різних режимів холодової акліматизації» відповідає вимогам МОН України до кандидатських дисертацій, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності 03.00.19 – кріобіологія.

Офіційний опонент

доцент кафедри фізіології людини

та тварин біологічного факультету

Харківського національного університету

імені В. Н. Каразіна

кандидат біологічних наук

Наглов О.В.

Свідомо Наглов О.В. засвідчую

Вр / Васюкова Г.С. /
заступник декана біологічного
факультету ЗНУ імені В.Н.Каразіна

