

## ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Кулика Володимира Володимировича

«Вплив різних режимів ритмічного екстремального охолодження на структурно-функціональний стан нейрогуморальної системи організму молодих і старих щурів», подану 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.

Актуальність теми дисертації обумовлена двома моментами. По перше, підвищується інтерес до фізіотерапії, одним з методів якої є кріотерапія. Холодові впливи за механізмом своєї дії здійснюють нейроімуноендокринну регуляцію метаболічних процесів, спрямованих на підвищення неспецифічної резистентності організму. При цьому нервово-рефлекторна дія кріотерапії здійснюється через систему взаємопов'язаних ланок: рефлекторну, що включає аферентні сигнали, що сприймає центр і еферентні сигнали; гуморально-гормональну - гуморальні агенти і нейрогормони, які продукуються ендокринними залозами і нейронами; біохімічні, біофізичні реакції і метаболічні процеси, що протікають на тканинному, клітинному і молекулярному рівнях. Ритмічні екстремальні холоддові впливи, які є різновидом загального екстремального охолодження, здатні покращувати власні адаптаційно-компенсаторні можливості організму. На жаль комплексних досліджень про оптимальні режими РЕХВ практично немає. У зв'язку з цим спрямованість роботи має не тільки теоретичну, а й практичну перспективу

По друге, в роботі розглядається віковий аспект впливу РЕХВ, Такий підхід дозволяє обґрунтувати можливість використання холоддових процедур для літніх людей.

### Зв'язок роботи з державними та галузевими програмами.

Робота виконана в рамках відомчих НДР відділу кріофізіології Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України № 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); № 103: «Формування адаптаційних реакцій організму експериментальних тварин в умовах дії штучного охолодження та кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової

крові при старінні і патологічних станах» (шифр – 2.2.6.103, № державної реєстрації 0116U003493).

**Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність.**

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

**Наукова новизна отриманих результатів.**

За матеріалами наукових досліджень автором *вперше дана оцінка* структурно-функціональним змінам, які відбуваються в нейрогуморальній системі організму молодих і старих тварин до та після застосування різних режимів ритмічного екстремального охолодження. *Вперше з'ясована* ефективність використання комбінованого режиму РЕХВ ( $-60^{\circ}\text{C}$ ;  $-120^{\circ}\text{C}$ ;  $-120^{\circ}\text{C}$ ), особливо у старих щурів, з метою підвищення не тільки власних адаптаційно-компенсаторних можливостей організму, а і для прискореної адаптації тварин до несприятливих умов життєдіяльності. *Вперше встановлено*, що незалежно від віку тварин, застосування температурного режиму РЕХВ ( $-60^{\circ}\text{C}$ ;  $-120^{\circ}\text{C}$ ;  $-120^{\circ}\text{C}$ ), на відміну від режимів ( $-120^{\circ}\text{C}$ ;  $-120^{\circ}\text{C}$ ;  $-120^{\circ}\text{C}$ ) і ( $-60^{\circ}\text{C}$ ;  $-60^{\circ}\text{C}$ ;  $-60^{\circ}\text{C}$ ), сприяло збільшенню показника загальної спектральної потужності за рахунок активації як вегетативних центрів, так і гуморальної ланки регуляції. *Вперше виявлено*, що у старих щурів використання температурних режимів РЕХВ ( $-120^{\circ}\text{C}$ ;  $-120^{\circ}\text{C}$ ;  $-120^{\circ}\text{C}$ ) та ( $-60^{\circ}\text{C}$ ;  $-120^{\circ}\text{C}$ ;  $-120^{\circ}\text{C}$ ) покращувало гормонсинтезуючу здатність щитоподібної і статевих залоз. Режим охолодження ( $-60^{\circ}\text{C}$ ;  $-120^{\circ}\text{C}$ ;  $-120^{\circ}\text{C}$ ) надавав більш «м'який» вплив на ліпідний профіль сироватки крові молодих і старих тварин, оскільки не супроводжувався стресовою реакцією організму у вигляді гіперліпідемії. *Вперше показано*, що режим РЕХВ ( $-60^{\circ}\text{C}$ ;  $-120^{\circ}\text{C}$ ;  $-120^{\circ}\text{C}$ ) на початкових етапах досліджень збільшував вміст МДА в тканинах ГМ тварин незалежно від їх віку, при цьому на відміну від режиму ( $-120^{\circ}\text{C}$ ;  $-120^{\circ}\text{C}$ ;  $-120^{\circ}\text{C}$ ) у відповідь на надмірне накопичення продуктів ПОЛ адекватно активував антиоксидантну систему. При електронно-мікроскопічному дослідженні нейронів кори ГМ, гіпоталамусу та гіпокампу старих щурів *встановлено*, що в них розвивалися внутрішньоклітинні катаболічні процеси. Органели мали ознаки дистрофічних і деструктивних порушень мембранних



структур. *Вперше виявлено*, що використання РЕХВ в температурному режимі ( $-60^{\circ}\text{C}$ ;  $-120^{\circ}\text{C}$ ;  $-120^{\circ}\text{C}$ ) стимулювало синтетичні і метаболічні процеси в клітинних елементах кори головного мозку, гіпоталамусу та гіпокампу молодих і старих щурів. *Вперше доведено*, що режим РЕХВ ( $-60^{\circ}\text{C}$ ;  $-120^{\circ}\text{C}$ ;  $-120^{\circ}\text{C}$ ) призводив до значущого поліпшення когнітивних функцій експериментальних тварин.

#### **Практичне значення отриманих результатів.**

Результати досліджень розкривають спрямованість і рівень активності компенсаторних процесів, які відбуваються в регуляторних системах організму тварин на тлі застосування різних режимів РЕХВ, особливо у віковому аспекті. Отримані експериментальні дані обґрунтовують доцільність створення більш оптимальних режимів ритмічного екстремального охолодження з метою корекції механізмів гомеостазу та дадуть змогу значно розширити терапевтичний спектр застосування РЕХВ. Встановлені особливості впливу різних режимів РЕХВ можуть бути використані в освітніх програмах кафедр фізіології, патофізіології, геронтології, неврології та кріобіології. Результати досліджень дозволили розробити спосіб підвищення адаптивних можливостей організму старих тварин, що підтверджено Патентом України (№ 115621).

#### **Обсяг, структура і зміст дисертації.**

Дисертація викладена за традиційною схемою на 218 сторінках машинописного тексту і складається з анотації, вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, 5 розділів власних досліджень та їх обговорення, узагальнення, висновків, списку використаних джерел та 3 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 172 сторінки друкованого тексту. Робота ілюстрована 7 таблицями, 76 рисунками, з яких 62 мікрофотографії. Список літератури містить 397 джерел. Текст дисертації, як за змістом, так і редакційно викладено та оформлено здобувачем якісно, назва роботи повністю відповідає меті та основному змісту дисертації.

У вступі обґрунтовано актуальність досліджуваної проблеми, наведено зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, сформульовано мету і завдання дослідження, наведено методи, представлено наукову новизну і практичне значення отриманих результатів, зазначено особистий внесок, апробацію і дані щодо публікації матеріалів, окреслено об'єм і структуру дисертації.

Перший розділ «Огляд літератури» написано з урахуванням сучасних наукових даних. Він складається з двох підрозділів та містить теоретичний матеріал, який використовується автором в подальшому при обговоренні отриманих результатів. У першому підрозділі представлений аналіз робіт щодо

основних механізмів профілактичної і терапевтичної дії ритмічного екстремального охолодження. Описуються основні методики сучасної кріотерапії. У другому підрозділі проведено детальний аналіз наукових публікацій з вивчення механізмів лікувального і профілактичного впливу наднизьких температур на організм людини, а також описана загальна кріотерапія як потужна фізіотерапевтична процедура, що стимулює власні адаптаційно-компенсаторні можливості організму.

У розділі 2 «Матеріали та методи дослідження» наведено опис схем експериментів із загальною характеристикою об'єктів дослідження. Детально описані застосовані методи дослідження: кріобіологічні (ритмічне екстремальне охолодження тварин в умовах кріокамери при температурах ( $-120^{\circ}\text{C}$ ;  $-120^{\circ}\text{C}$ ;  $-120^{\circ}\text{C}$ ), ( $-60^{\circ}\text{C}$ ;  $-60^{\circ}\text{C}$ ;  $-60^{\circ}\text{C}$ ) та ( $-60^{\circ}\text{C}$ ;  $-120^{\circ}\text{C}$ ;  $-120^{\circ}\text{C}$ ), електрофізіологічні (реєстрація електрокардіограми з подальшим спектральним аналізом варіабельності серцевого ритму), біохімічні і імуноферментні методи дослідження сироватки крові, електронно-мікроскопічні, гістологічні та гістохімічні методи дослідження мозку. Вірогідність отриманих результатів та висновків роботи підтверджуються статистичною аналізом.

Власні дослідження представлені в 5-ти розділах де описані усі результати даного дослідження, отримані при виконанні поставлених завдань.

У розділі 3 представлені дані про дію ритмічних екстремальних холододових впливів. Аналіз хвильової структури серцевого ритму молодих контрольних тварин показав наявність у них швидкої (рефлекторної) системи регуляції. У старих контрольних щурів спостерігалися порушення структури спектра нейрогуморальної регуляції серцевого ритму. Підвищувався рівень гуморально-метаболических впливів на міокард на тлі зменшення тонуусу симпатичного і парасимпатичного відділів ВНС.

У розділі 4 детально викладені дані про стан біохімічного профілю сироватки крові після ритмічних екстремальних холододових впливів. Показано, що різні режими холододового навантаження викликають зменшення вмісту  $T_3$  і  $T_4$ , а вміст ДГЕАС і кортикостерону достовірно підвищувався. При цьому відмічається збільшенням рівня загального холестерину (ЗХ), тригліцеридів (ТГ), холестерину ліпопротеїнів низької щільності (ХСЛПНЦ) і відповідно коефіцієнта атерогенності (КА) в сироватці крові молодих щурів після 3, 6 і 9 процедури охолодження.

Розділ 5 присвячений висвітленню результатів щодо впливу ритмічного екстремального охолодження на активність ПОЛ. Показано, що в групі старих контрольних щурів вміст МДА в тканинах ГМ збільшувався в порівнянні з молодими, що свідчило про інтенсифікацію процесів ПОЛ.



У розділі 6 автор наводить докладний опис результатів вивчення гістологічного стану тканин мозку. Показано, що РЕХВ не викликають пошкоджень в клітинах.

Розділ 7 присвячений аналізу поведінкових характеристик щурів після РЕХВ. Показано, що холодове навантаження прискорює когнитивні функції.

Експериментальну частину результатів досліджень, в якому в стислій формі відображається суть роботи.

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 16 надрукованих працях, серед яких 10 статей (5 статей у виданнях, які входять до переліку наукових фахових видань України, 1 з яких у виданнях, що входять до міжнародних наукометричних баз даних (Scopus), 8 – у збірниках матеріалів науково-практичних конференцій та 8 тез доповідей в збірниках матеріалів вітчизняних та міжнародних з'їздів і конференцій. Отримано патентна корисну модель.

**Зауваження та запитання щодо змісту дисертації і автореферату.** Дисертаційна робота справляє гарне враження, виконана на достатньо високому науковому рівні. Принципових недоліків та зауважень в ній виявлено не було. До дискусійних питань можна віднести наступне:

1. Автор в своїй роботі використовує фразу: РЕХВ надають стимулюючий вплив на гомеостаз, проте стимулювати можна активність механізмів, а не стан, тому на мій погляд більш коректно було використовувати фразу оптимізація механізмів гомеостазу;

2. У фразі стану нейрогуморальної системи організму молодих і старих щурів, слово організму можна було не застосовувати;

3. Далі фраза статевих гормонів сироватки крові, проте статеві гормони не належать сироватці, тому краще було вставити «в сироватці»;

4. Фраза визначено концентрацію малонового діальдегіду (МДА), який характеризує інтенсивність перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) в мозковій тканині, хоча концентрація МДА характеризує інтенсивність перекисного окислення в будь який тканині, а не тільки в мозковій;

5. Замість фраз нейрогуморальних змін та зігривали на протязі краще було застосовувати: змін нейрогуморальної активності і зігривали протягом.

Крім того, під час опрацювання дисертації до автора виникло декілька запитань:


1. Чим обумовлений вибір режиму холодкових впливів саме такої послідовності і дії?

2. Які механізми лежать в основі підвищення адаптаційних можливостей організму на РЕХВ і чим обумовлена сама така динаміка відповіді регуляторних систем серця?

3. Чи є кореляції між змінами морфології клітин головного мозку і когнітивних функцій молодих і старих щурів після впливу РЕХВ?

**Висновок про відповідність.** Дисертаційна робота Кулика В.В. 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 з науковими програмами, висвітлення результатів у вітчизняній та зарубіжній літературі, їх обговорення на з'їздах і конференціях вважаю, що дисертаційна робота Кулика Володимира Володимировича «Вплив різних режимів ритмічного екстремального охолодження на структурно–функціональний стан нейрогуморальної системи організму молодих і старих щурів» відповідає вимогам пунктів 9 та 11 «Порядку присудження наукових ступенів», затверджених Кабінетом Міністрів України та вимогам ДАК МОН України, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.19– кріобіологія.

Офіційний опонент  
Кандидат біологічних наук,  
доцент кафедри фізіології  
та тварин Харківського національного  
університету імені В.Н. Каразіна

  
Наглов О.В.

ПІДПИС ЗАСВІДЧУЮ  
Начальник кафедри



*O. Naglov*