

ВІДГУК

на дисертаційну роботу Луценка Дмитра Григоровича «Стан мікрогемодинамічної системи та вегетативної регуляції серцевого ритму щурів в умовах різних режимів холодової акліматії», що подана на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.19 – кріобіологія

Актуальність обраної теми. Не зважаючи на технічний і науковий прогрес наразі Всесвітня організація праці визнає, що ще не можна виключити присутності людини в зонах з низькими температурами в зв'язку з необхідністю виконання в таких умовах великої кількості достатньо тонких робіт, які неможливо виконувати дистанційно і автоматично. І для того, щоб людина і надалі могла ефективно виконувати різні види робіт, перебуваючи тривалий час в умовах з низькою температурою навколишнього середовища без суттєвого збитку для свого здоров'я, необхідно продовжувати вивчати механізми акліматизації до холоду і розробляти способи підвищення стійкості організму до низьких температур. Однією з найважливіших ланок, що задіяні у процесі акліматизації до холоду, є серцево-судинна система. Але адаптацію до холоду на мікрогемодинамічному рівні наразі досліджено недостатньо. Особливо з урахуванням функціонування серцево-судинної системи за умов різних режимів дії холоду.

У зв'язку з цим, вважаю, що тема дисертаційної роботи Луценка Д.Г. є актуальним завданням сучасної кріобіології і кріомедицини та відповідає профілю спеціалізованої вченої ради Д 64.24.01.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація виконана у відділі кріофізіології Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України в рамках науково-дослідних тем № 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) та № 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. Наукова новизна представленої роботи полягає у виявленні різниці у відповідях серцево-судинної системи на мікроциркуляторному рівні та на рівні вегетативної регуляції роботи серця після неперервних та ритмічних режимів холодової акліматії. Вперше показано, що ритмічний та неперервний режими холодової акліматії приводять до різної відповіді на мікроциркуляторному рівні як в тканинах «оболонки», так і «ядра» тіла; на рівні системи крові ці режими по різному впливають на осмотичну крихкість еритроцитів та обмін

оксиду азоту, а на рівні вегетативної регуляції серцевої діяльності вперше встановлено, що тварини, які відрізняються вихідним рівнем вегетативної регуляції серця при тривалих режимах аклімації до холоду, реалізують вегетативні стратегії, з різним ступенем залучення симпатичної і парасимпатичної ланок вегетативної нервової системи.

Практичне значення.

Структурно-функціональні зміни серцево-судинної системи щурів в умовах неперервної та ритмічної аклімації до холоду, які були виявлені в дисертаційній роботі, вказують на важливість попереднього аналізу вихідного рівня стану вегетативної регуляції організму для прогнозування розвитку адаптації до холоду. Виявлене в дисертаційній роботі підвищення адаптаційних здібностей після РХА доводить доцільність використання ритмічних режимів холодової аклімації для пристосування теплокровних тварин і людини до дії низьких температур.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 212 сторінках, з яких 128 сторінок основної частини, і складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів досліджень, 4 розділів власних досліджень і їх обговорення, узагальнення, висновків, списку літератури та 2 додатків. Список літератури містить 555 джерел, у тому числі 364 зарубіжних, розміщених на 58 сторінках тексту. Робота ілюстрована 19 таблицями і 23 рисунками, з яких 12 мікрофотографій.

У вступі автор формулює актуальність, об'єкт, предмет та мету дослідження, для досягнення якої вирішує 5 завдань. Для виконання роботи Луценко Д.Г. залучає сучасні методи: кріобіологічні (моделювання неперервної та ритмічної холодової аклімації та оцінювання адаптації до холоду в тесті вимушеного плавання в холодній воді), електрофізіологічні (реєстрація електрокардіограми з подальшим спектральним та фрактальним аналізом варіабельності серцевого ритму), прижиттєва світлова та флуоресцентна мікроскопія, морфометричний аналіз, біохімічний аналіз продуктів метаболізму оксиду азоту, спектрофотометрія, гістологічний аналіз, статистичний аналіз результатів, що дозволяє зробити висновок щодо адекватності використаних методів до рішення задач роботи.

В огляді літератури автором представлено аналіз наукових публікацій щодо ролі серцево-судинної системи в забезпеченні адаптації до холоду гомойотермних тварин. Автор дуже ретельно підійшов до аналізу самого поняття аклімація та відповідності різних моделей експериментальної холодової аклімації природній акліматизації до зимових умов. Автор звертає увагу на існування декількох типів холодової аклімації у гомойотермних організмів і відсутність усталеного уявлення за рахунок чого запускаються механізми розвитку адаптації за тим чи іншим типом. Враховуючи, що серцево-судинна система виграє одну з провідних ролей

в забезпеченні температурного гомеостазу організму, значну частину огляду літератури присвячено дослідженням механізмів вегетативної регуляції на рівні серця та периферійним реакціям мікроциркуляторного руслу в органах «ядра» і «оболонки» під дією холоду. Окремо проаналізовано вплив тривалої дії холоду на стан окремих показників системи крові, зокрема на осмотичну крихкість еритроцитів, лейкоцитарну формулу, рівень обміну оксиду азоту, які вносять свій вклад в формування терморегуляторної відповіді організму. Наданий автором аналіз дозволяє зрозуміти актуальність розглядаємої проблематики і необхідність проведення цієї роботи. В цілому цей підрозділ свідчить про знання автором сучасного стану досліджуваної проблеми.

Розділ «Матеріали і методи» займає 15 сторінок. Він написаний гарною науковою мовою, а використані методи дослідження вказують на те, що робота виконана на сучасному рівні, залучені методи не викликають сумніву щодо отриманих результатів.

Власні дослідження подані у 4 розділах. Перший розділ присвячено оцінюванню формування аклімації до холоду. Автор наводить інформацію про приріст маси тіла у тварин, динаміку коливань поверхневої температури протягом всього періоду досліджень та оцінку впливу різних режимів холодової аклімації на адаптаційні здібності щурів і здатність їх виконувати фізичне навантаження при холодкових впливах. Зокрема автором показано, що ритмічний режим холодової аклімації, на відміну від неперервної дії холоду, значимо підвищує адаптаційні здібності щурів до холоду. І таке підвищення адаптаційних здібностей після РХА зберігається щонайменше протягом 30-ти діб після припинення холодкових впливів. Про завершення. Це дуже важливе спостереження, яке може бути корисним під час розробки методик підвищення холодової стійкості теплокровних тварин, і людини в тому числі, наприклад, для підготовки до тривалого перебування в циркумполярних регіонах.

Наступний розділ автор присвячує вивченню впливу РХА та НХА на особливості мікрогемодинаміки в структурах «ядра» та «оболонки» тіла щурів. Дослідження проводилися в режимі *in vivo* на ділянках шкіри, скелетних м'язів, головного мозку та печінки. Застосування прижиттєвої мікроскопії на таких різних за локалізацією та анатомічними і фізіологічними особливостями тканинах вимагає дуже ретельного планування експерименту та доброго володіння навичками для доволі складного хірургічного втручання. Крім того автору потрібно було правильно ідентифікувати досліджувані мікросудини та провести їх морфометричні вимірювання. На наш погляд йому це дуже добре вдалося. Згідно з результатами дисертаційної роботи РХА і НХА приводили до різних відповідей в мікросудинному руслі як в структурах «ядра» (печінка, головний мозок), так і в структурах «оболонки» (шкіра, м'язи кінцівок) тіла щурів. Після НХА спостерігалось значиме збільшення середнього діаметра прекапілярів і

капілярів шкіри та відбувалося збільшення відносної площі мікросудин у шкірі на 46%. У м'язах стегна після НХА діаметри артеріол зменшилися на 22%, а діаметри посткапілярів збільшилися на 19% у порівнянні з РХА. Після РХА відбувалося збільшення відносної площі мікросудин у м'язах стегна на 26% у порівнянні з контролем та в печінці на 13% відносно стану після НХА. У головному мозку після РХА відбувається збільшення діаметрів артеріол, капілярів і посткапілярів (на 23, 26 та 16% відповідно) відносно змін у мікросудинах після НХА. На наш погляд сукупність отриманих автором даних дозволила показати можливі механізми формування різних типів холодової аклімації в залежності від сили холодового навантаження на організм.

У третьому розділі власних досліджень вивчаються особливості вегетативної регуляції серцевої діяльності при різних режимах холодової аклімації. Плануючи цей блок досліджень Луценком Д.Г. була виконана значна підготовча робота, про що свідчить окремий підрозділ в огляді літератури. Наразі для тварин досі не існує усталених діапазонів поділення потужності варіабельності серцевого ритму. Автором лише для щурів було знайдено 19 варіантів такого розподілу. Слід зазначити, що за результатами дисертаційної роботи в даному випадку обидва режими діяли схожою мірою: в обох експериментальних групах спостерігався розподіл на 2 підгрупи з практично протилежними стратегіями вегетативної регуляції, які відрізнялися за ступенем залучення симпатичної і парасимпатичної ланок ВНС. Якщо тварини від початку мали високі значення ТР, то під час аклімації до холоду у них переважно активувалася симпатична регуляція. За низьких значень ТР під час аклімації активувалися і симпатична і парасимпатична ланки вегетативної нервової системи. Виявлені закономірності вказують на важливість попереднього аналізу вихідного рівня показників варіабельності серцевого ритму для прогнозування результатів адаптації до холоду.

Останній розділ власних досліджень автор присвячує дослідженню впливу різних режимів холодової аклімації на окремі показники системи крові щурів. Оцінюючи вплив НХА і РХА на осмотичну крихкість і індекс сферичності еритроцитів щурів автором показано, що ритмічний та неперервний режими холодової аклімації приводять до змін осмотичної крихкості еритроцитів крові щурів. І це знаходить відображення у зміні їх популяційного складу. НХА приводила до збільшення кількості як еритроцитів, що мають форму близьку до сферичної, так і еритроцитів зі сплющеною формою. Після РХА спостерігалася збільшення лише кількості еритроцитів із формою близькою до сферичної, але відбувалося зменшення кількості сплюснених форм еритроцитів. В підрозділі про вплив різних режимів холодової аклімації на лейкоцитарні чинники автором показано, що обидва режими холодової аклімації приводять до підвищення загальної кількості лейкоцитів, при цьому у щурів не виявлено розвитку

стресорного стану, а згідно з поширеною теорією неспецифічних адаптаційних реакцій організму Л.Х.Гаркаві стверджується, що після РХА у щурів відбувається формування стану спокійної активації, а після НХА — стану підвищеної активації, і це може бути пов'язано з рівнем холодового навантаження, отриманого організмом в процесі аклімації. Враховуючи широке залучення оксиду азоту (NO) в регуляцію багатьох фізіологічних процесів, причетних до забезпечення температурного гомеостазу автором було досліджено рівень метаболітів NO в різних тканинах і виявлено, що при тривалих режимах холодової аклімації, як неперервної, так і ритмічної, спостерігається зниження концентрації метаболітів NO в сироватці крові. Вплив НХА призводить до значного підвищення рівня метаболітів NO в міокарді щурів, а РХА — до значимого зниження їх рівня в тканинах кори головного мозку.

У розділі узагальнення автором зроблено ретельний аналіз отриманих результатів. Цей підрозділ свідчить на користь того, що автор здатен до аналізу власних результатів та умінню використовувати для пояснення того чи іншого факту дані інших дослідників.

Ступінь обґрунтованості та вірогідність положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Наукові положення, розроблені дисертантом, базуються на використанні адекватних методів статистичної обробки даних, що підтверджує їх достовірність.

Висновки, зроблені автором, логічно витікають з проведених досліджень, відображують основні результати роботи, яка є добре спланованим та закінченим дослідженням.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті. Матеріали дисертації у повному обсязі викладені в 37 працях, з них 7 статей у фахових наукових виданнях України (2 з яких входять до міжнародної наукометричної бази даних Scopus), 2 статті у закордонних наукових журналах (1 із яких входить до міжнародної наукометричної бази даних Scopus), 1 стаття у нефарховому спеціалізованому науковому виданні України, 4 статті у збірниках матеріалів науково-практичних конференцій, опубліковано 23 тез доповідей. У наукових працях повною мірою відзеркалено всі розділи рецензованої дисертації. Матеріали дисертації відображені в авторефераті дисертації, який за структурою і змістом цілком відповідає тексту дисертації.

Недоліки дисертації та автореферату, щодо їх змісту та оформлення. Принципових зауважень до дисертації та автореферату немає. До недоліків та дискусійних питань можна віднести наступне:

1. Плавання в холодній воді – це аксидентне швидке охолодження на тлі сильного емоційного і функціонального стресу. Чи можна використовувати такий вплив в якості критерію адаптованості тварин до холоду?

2. Можливо кращим критерієм аклімації було б вимірювання теплопродукції організму після екстремальних холодових впливів?

3. На мою думку неможливо стверджувати про наявність чи відсутність стресу лише за рівнем лейкоцитів.

Наведені зауваження та запитання ні в якій мірі не знижують цінності та загального значення роботи.

Висновок. Дисертаційна робота Луценка Дмитра Григоровича «Стан мікрогемодинаміки системи та вегетативної регуляції серцевого ритму щурів в умовах різних режимів холодової аклімації», що присвячена актуальному напрямку сучасної кріобіології, є самостійним закінченим науковим дослідженням, яке вирішує важливу проблему виявлення механізмів формування адаптації до холоду на рівні серцево-судинної системи. Дисертація за актуальністю, об'ємом, рівнем проведених досліджень, науковою новизною та практичною значущістю відповідає вимогам ДАК МОН України, що пред'являють до кандидатських дисертацій, а вагомий особистий внесок автора та рівень апробації роботи дозволяє вважати автора гідним присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.19 – кріобіологія.

Офіційний опонент:

завідувач кафедри хімії та біохімії

імені професора О.В. Чечоткіна

Харківської державної зооветеринарної академії

МОН України,

доктор біологічних наук, професор

Жегунов Г.Ф.

Лілія Жегунова Г.Ф.
Ст. інспектор
в кадрів



Лілія Жегунова Л.В.