

ОТЗЫВ

ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА КУЗНИКА БОРИСА ИЛЬИЧА

на диссертацию ЦЫМБАЛА Александра Александровича на тему:
«Закономерности и механизмы биологического действия электромагнитных волн терагерцевого диапазона на частотах активных клеточных метаболитов»,
представленную на соискание учёной степени доктора медицинских наук по специальности 03.03.01-физиология

Диссертационное исследование А.А. Цымбала по изучению влияния низкоинтенсивного электромагнитного излучения терагерцевого диапазона на частотах оксида азота 150,176-150,664 ГГц и атмосферного кислорода 129,0 ГГц на показатели гомеостаза белых крыс-самцов при различных вариантах иммобилизационного стресса проведены в рамках:

1) отраслевой научно-исследовательской программы № 9: «Этиопатогенез, диагностика и лечение заболеваний крови» на тему: «Исследование влияния на сложные биологические системы электромагнитных колебаний на частотах молекулярных спектров излучения и поглощения веществ, участвующих в метаболических процессах» (договор № 005/037/002 от 25 сентября 2001 года с МЗ РФ),

2) программы РАМН «Научные медицинские исследования Поволжского региона на 2008-2010 гг.», по направлению «Экспериментальные исследования влияния радиоимпульсного излучения на функциональное состояние белых крыс (биообъекты) при различных видах стресса», утверждено Президиумом РАМН 23 апреля 2008 г., протокол № 7,

3) международного договора о научно-техническом сотрудничестве с исследовательским центром по биофотонике Института биомедицинской инженерии и технологий здравоохранения и Шеньчженьского института передовых технологий Китайской академии наук и ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздравсоцразвития России от 02.03.2010.

Результаты, полученные автором, прошли достаточно широкую апробацию на региональных, всероссийских и международных конференциях и отражены в 86 работах, в том числе 15 в реферируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, 1 монографии, 1 методических рекомендациях и 4 зарубежных публикациях и 7 патентах на изобретения. В указанных публикациях отражены основные положения диссертационного исследования.

Диссертация изложена на 368 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследований, 6 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 401 источников, из которых 278 отечественных и 123 зарубежных. Диссертация иллюстрирована 71 таблицами, 50 рисунками и схемой.

Диссертация построена по классическому плану, во введении диссертант обосновывает актуальность проблемы, определяет цель и задачи диссертационного исследования, излагает основные положения, выносимые на

защиту, освещает научную новизну и практическую значимость работы, приводит сведения о внедрении и апробации диссертации.

Глава 1 «Биофизические эффекты электромагнитного излучения субмиллиметровой части терагерцового диапазона и перспективы развития терагерцовых биомедицинских технологий» (обзор литературы) в полной мере отражает современные и актуальные представления об изучаемой диссертантом научной проблеме. Автором работы при составлении обзора литературы проанализированы как классические публикации по тематике диссертационного исследования, так и новейшие источники. Глава читается с большим интересом, написана хорошим литературным языком и даёт полное представление о предстоящем изложении собственного материала диссертационного исследования.

В главе 2 «Материалы и методы исследований» автор приводит данные о количестве объектов исследования, даёт характеристику аппарату для терагерцовой терапии «Орбита» с помощью которого осуществлялось облучение, подробно знакомит с самой методикой облучения, режимами воздействия на организм. Подробно останавливается на методике изучения показателей гомеостаза. Главу завершают сведения о методах статистической обработки полученных результатов, из которых следует, что в основном в работе использовался непараметрический метод – U-критерий Манна-Уитни.

Глава 3 «Влияние электромагнитных волн терагерцового диапазона на частотах активных клеточных метаболитов на измененный эндокринный статус стрессированных крыс-самцов» посвящена оценке биологической эффективности терагерцовых волн в нормализации измененной функциональной активности гипофизарно-тиреоидной системы и концентрации кортикостерона. Цымбалом А.А. установлено, что электромагнитные волны терагерцового диапазона на частотах активных клеточных метаболитов нормализуют измененную функциональную активность эндокринных желез: гипофиза, щитовидной железы, надпочечников у стрессированных крыс. Так, при воздействии терагерцевым облучением на частотах оксида азота 150,176-150,664 ГГц в течение 15 минут при остром и длительном стрессах наблюдается частичная нормализация гипофизарно-тиреоидной активности у крыс-самцов, при этом восстанавливаются концентрация свободного трийодтиронина и уровень тиреоглобулина. При 30-минутной экспозиции терагерцевых волн на частотах МСИП оксида азота 150,176-150,664 ГГц отмечено полное восстановление измененной гипофизарно-тиреоидной активности у экспериментальных животных. Воздействие указанными электромагнитными волнами по 5 минут является неэффективным в восстановлении измененной при стрессе концентрации ТТГ и гормонообразовательной функции щитовидной железы. Воздействие терагерцевым облучением на частоте МСИП атмосферного кислорода 129,0 ГГц в течение 15 минут на фоне острого стресса и ежедневно в течение 5 дней по 30 минут на фоне длительной иммобилизации блокировало повышение функциональной активности коры надпочечников, что выражалось в нормализации уровня кортикостерона в сыворотке крови у стрессированных

животных. Данный факт указывает на стресс-лимитирующую функцию исследуемого диапазона терагерцевой частоты.

В главе 4 «Электромагнитные волны терагерцового диапазона на частоте атмосферного кислорода 129,0 ГГц в нормализации измененных показателей системы гемостаза и фибринолиза у экспериментальных животных» показано, что наиболее эффективным в нормализации измененных показателей гемокоагуляции, антикоагулянтной и фибринолитической активности крови у крыс-самцов как в условиях острого, так и длительного стресса, оказался 30-минутный режим облучения терагерцевыми волнами на частоте атмосферного кислорода 129,0 ГГц, так как при данном временном режиме полностью восстанавливаются все изучаемые параметры гемостаза и фибринолиза. Менее эффективным является 15-минутный режим облучения: выявлена только частичная нормализация коагуляционных и фибринолитических свойств крови у животных при остром и длительном стрессах. Неэффективным является 5-минутный режим воздействия терагерцевыми волнами на частоте атмосферного кислорода 129,0 ГГц, так как положительных статистически достоверных изменений в коагуляционном звене системы гемостаза и фибринолитической активности крови у стрессированных животных не обнаружено.

Глава 5 «Влияние электромагнитных волн терагерцового диапазона на частотах оксида азота 150,176-150,664 ГГц на показатели липопероксидации, антиоксидантной активности крови у стрессированных крыс» содержит новые экспериментальные данные о том, что терагерцевое облучение на частотах оксида азота 150,176-150,664 ГГц частично или полностью у стрессированных крыс-самцов угнетает интенсификацию процессов липопероксидации, снижает явления цитолиза, реактивирует состояние всех звеньев антиоксидантной и антирадикальной защиты в зависимости от условий эксперимента и времени облучения. Наиболее эффективными являются 15- и 30-минутные режимы воздействия, при которых наблюдается частичное и полное восстановление исследуемых показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы крови.

В главе 6 «Применение электромагнитных волн терагерцового диапазона на частотах оксида азота 150,176-150,664 ГГц для коррекции постстрессорных изменений газового и электролитного состава крови у крыс-самцов» диссертант показал, что электромагнитные волны терагерцового диапазона на частотах оксида азота 150,176-150,664 ГГц являются эффективным способом нормализации измененных показателей газового и электролитного составов крови, в частности, уровня ее оксигенации и концентрации основных потенциалобразующих ионов при различных вариантах стрессирования крыс.

В главе 7 «Восстановление основных показателей метаболического статуса у стрессированных крыс терагерцевыми волнами на частотах оксида азота 150,176-150,664 ГГц» при проведении сравнительной оценки эффективности воздействия терагерцового облучения на частотах МСИП

оксида азота 150,176-150,664 ГГц на измененные показатели метаболического статуса у стрессированных животных в зависимости от времени облучения установлено, что наиболее выраженным нормализующим эффектом на изучаемые показатели у крыс-самцов обладал 30-минутный режим воздействия. При 15-минутном режиме облучения электромагнитными волнами на частотах МСИП оксида азота 150,176-150,664 ГГц положительный эффект на показатели, характеризующие метаболический статус, частичный: при остром стрессе у крыс-самцов нормализуются концентрация триглицеридов, активность АСТ и глутатион-S-трансферазы, а в условиях длительной иммобилизации восстанавливается только уровень триглицеридов. 5-минутное воздействие терагерцевыми волнами на указанных частотах на животных при остром и длительном иммобилизационном стрессах не вызывает изменений в исследуемых показателях метаболического статуса.

В главе 8 «Механизм действия электромагнитных волн терагерцевого диапазона на частотах активных клеточных метаболитов на биообъекты различного уровня организации» соискателем, в результате проведенных исследований установлено, что механизмы действия электромагнитных волн терагерцевого диапазона на частотах активных клеточных метаболитов реализуются на молекулярном, клеточном, тканевом, органном уровнях организации биосистем.

Так, на молекулярном уровне указанные волны вызывают, зарегистрированные с помощью молекулярной (флуоресцентной) спектроскопии изменения пространственной конфигурации в молекулах биополимеров, в частности, альбумина.

На клеточном уровне при облучении тромбоцитов терагерцевыми волнами на частотах активных клеточных метаболитов происходят изменения в процессах конформационной активации фибриногеновых рецепторов. Однако необходимо отметить, что эти же волны при 30-минутном режиме воздействия не оказывают влияния на уровень мембранной экспрессии интегринов $\alpha\text{IIb}\beta_3$, а также реакцию освобождения α -гранул тромбоцитов. Все это в конечном итоге приводит к изменению функциональной активности тромбоцитов, а, следовательно, и во всех звеньях системы гемостаза, учитывая тесную взаимосвязь сосудисто-тромбоцитарного и коагуляционного его механизмов.

На тканевом уровне при воздействии терагерцевых волн на экспериментальных животных, находящихся в состоянии стресса, наблюдается восстановление функционального состояния эндотелия сосудистой стенки и его биологической активности, что выражается в нормализации баланса продукции им биологически активных вазоконстрикторных и вазодилататорных веществ. Важными показателями тканевого гомеостаза также являются процессы липопероксидации и определенный уровень антиоксидантной активности крови; нами обнаружена нормализация указанных показателей у облученных крыс-самцов при иммобилизационном стрессе.

На органном и организменном уровнях биологические эффекты терагерцевых волн выражаются в нормализации эндокринного статуса

экспериментальных животных, показателей метаболизма, газового и электролитного составов крови и др.

Дополнительно для выяснения механизмов действия терагерцевого излучения на частоте атмосферного кислорода 129,0 ГГц при остром стрессе у крыс Цымбал А.А. применял конкурентный неселективный ингибитор конститутивных изоформ NO-синтаз L-NAME – метиловый эфир N^G-нитро-L-аргинина. Установлено, что облучение экспериментальных животных при остром стрессе терагерцевыми волнами на частоте атмосферного кислорода 129,0 ГГц в течение 30 минут на фоне предварительного введения неселективного ингибитора конститутивных изоформ NO-синтаз сопровождалось статистически достоверным восстановлением уровня eNOS в крови крыс, но не приводило к нормализации ее функциональной активности, так как не происходило изменения концентрации стабильных метаболитов оксида азота – нитритов в сыворотке крови, о чем свидетельствуют статистически достоверные различия в концентрациях нитритов у животных группы контроля и групп, подвергнутых 30-минутному облучению на фоне предварительного введения блокатора L-NAME.

Полученные данные свидетельствуют о том, что механизм действия терагерцевых волн на частоте атмосферного кислорода 129,0 ГГц реализуется при участии NO – синтазного компонента цикла оксида азота. Терагерцевые волны при блокаде eNOS не реализуют своего положительного эффекта на измененные показатели гомеостаза у экспериментальных животных при стрессе.

Заключение представляет собой обсуждение полученных результатов с привлечением данных литературы. Заключение свидетельствует о хорошем знании диссертантом литературы по изучаемому вопросу.

Выводы и практические рекомендации основаны на фактическом материале, являются результатом решения стоявших перед диссертантом задач, представляют научный и практический интерес и не вызывают возражений.

Результатом диссертационного исследования стала разработка научной концепции о механизме влияния электромагнитного излучения терагерцевого диапазона на частотах оксида азота 150,176-150,664 ГГц и атмосферного кислорода 129,0 ГГц на состояние показателей гомеостаза у экспериментальных животных.

Следует отметить, что результаты получены на сертифицированном оборудовании, концепция построена на проверяемых данных и фактах, согласуется с экспериментальными данными по теме диссертации.

В диссертационном исследовании А.А. Цымбал использовал современные методики сбора и обработки исходной информации.

Диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной проблемы и соответствует критерию внутреннего единства, что подтверждается наличием последовательного плана исследования, концептуальностью и взаимосвязями выводов, в работе использован комплекс существующих базовых методов исследования для изучения связей изучаемого явления с другими и генезис процесса этих взаимосвязей.

Кроме того, полученные данные в ходе настоящего экспериментального исследования послужили основанием для разработки аппарата для КВЧ-терапии «Орбита», который приказом Росздравнадзора от 14 августа 2009 года, № 6507-Пр/09 разрешен к производству, продаже и применению на территории РФ.

Представлены **методические рекомендации** «Применение терагерцевой терапии в клинической практике: Метод. Рекомендации» / ООО «Ракурс»; Сост.: А.А. Цымбал, В.Ф. Киричук, А.П. Креницкий и др.- Саратов, 2011.-135 с. и **монография** «Влияние терагерцевых волн на сложные живые объекты», В.Ф. Киричук, А.А. Цымбал, О.Н. Антипова и др.- Саратов: Изд-во СГМУ, 2014.- 325 с.

Автор опубликовал результаты собственных исследований и в зарубежной печати, так 4 статьи напечатаны в журналах Journal of Electromagnetic Analysis and Applications, Neuroscience and Behavioral Physiology, Engineering, Biomedical Engineering.

В этом смысле **диссертационную работу А.А. Цымбала считаю крайне актуальной**, она является серьезным вкладом в развитие учения о механизмах биологического действия электромагнитных волн терагерцевого диапазона на различные функции организма и показатели гомеостаза. Автором доказано и впервые экспериментально обосновано использование электромагнитных волн терагерцевого диапазона на частотах активных клеточных метаболитов для восстановления измененных показателей гомеостаза у животных при стрессе.

Научная новизна исследования подтверждена 7 патентами на изобретения и заключается в том, что впервые изучено влияние различных временных режимов электромагнитного излучения терагерцевого диапазона на частотах оксида азота 150,176-150,664 ГГц и атмосферного кислорода 129,0 ГГц на измененные гомеостатические параметры у крыс-самцов, находящихся в состоянии острого и длительного иммобилизационного стрессов, участие конститутивных изоформ NO-синтаз в механизмах положительного влияния терагерцевых волн на частоте атмосферного кислорода 129,0 ГГц.

Автором впервые показан характер воздействия электромагнитных волн терагерцевого диапазона на гипофизарно-тиреоидную активность, показатели коагуляционного звена системы гемостаза, антикоагулянтной и фибринолитической активности крови крыс-самцов.

Цымбалом А.А. впервые экспериментально доказано стресс-лимитирующее действие электромагнитного излучения терагерцевого диапазона на частоте атмосферного кислорода 129,0 ГГц у иммобилизованных животных.

Впервые установлена возможность нормализации при стрессе измененной концентрации стабильных метаболитов оксида азота – нитритов, электромагнитными волнами терагерцевого диапазона на частоте атмосферного кислорода 129,0 ГГц.

Выявлена зависимость эффективности влияния электромагнитного излучения указанного диапазона на частотах оксида азота 150,176-150,664 ГГц у стрессированных крыс-самцов от времени воздействия на состояние

процессов липопероксидации и антиоксидантной системы крови. Наиболее эффективными в восстановлении измененных показателей являются 15- и 30-минутные режимы облучения.

Впервые в различных вариантах моделирования стресс-реакции у животных обнаружена возможность использования терагерцевых волн на частотах оксида азота 150,176-150,664 ГГц для восстановления измененных показателей электролитного состава крови и степени ее оксигенации.

Доказана эффективность электромагнитных волн терагерцевого диапазона на частотах оксида азота 150,176-150,664 ГГц в нормализации измененных показателей метаболического статуса стрессированных крыс-самцов.

Проведенные исследования позволили раскрыть ряд механизмов влияния электромагнитных волн терагерцевого диапазона на частотах оксида азота 150,176-150,664 ГГц и атмосферного кислорода 129,0 ГГц на биообъекты. Обнаружено, что они реализуются на молекулярном, клеточном, органно-тканевом и организменном уровнях организации биологических систем. Так, терагерцевое излучение вызывает изменения пространственной конфигурации в молекулах биополимеров, в частности, белка альбумина, не оказывает влияния на уровень мембранной экспрессии интегринов $\alpha\text{IIb}\beta_3$, а также реакцию освобождения α -гранул тромбоцитов, но изменяет процесс конформационной активации фибриногеновых рецепторов, эффективно восстанавливает функциональное состояние эндотелия сосудистой стенки, нормализуя баланс продукции им вазоконстрикторных и вазодилаторных биологически активных веществ. На органном и организменном уровнях организации живых систем механизмы действия указанных волн связаны с нормализацией активности эндокринных желез и основных показателей гомеостаза.

Впервые с помощью электромагнитных волн терагерцевого диапазона на частотах активных клеточных метаболитов установлена возможность нормализации уровня и активности eNOS в плазме крови у стрессированных животных. Применяя метиловый эфир N^G -нитро-L-аргинина экспериментально доказано участие конститутивных изоформ NO-синтаз в механизмах положительного влияния терагерцевых волн на частоте атмосферного кислорода 129,0 ГГц на измененные показатели гомеостаза у крыс при стрессе.

Практическая значимость исследования Цымбала А.А. заключается в том, что представлена новая физиологическая концепция о механизмах влияния электромагнитного излучения терагерцевого диапазона на частотах оксида азота 150,176-150,664 ГГц и атмосферного кислорода 129,0 ГГц на состояние показателей гомеостаза у экспериментальных животных. Понимание механизмов влияния указанных волн на биообъекты позволяет более целенаправленно и адекватно осуществлять применение терагерцевого излучения как в эксперименте на животных, так и в клинической практике.

Экспериментально обоснованы наиболее оптимальные временные режимы облучения электромагнитными волнами терагерцевого диапазона частот, обеспечивающие максимально эффективную коррекцию измененных показателей гомеостаза у экспериментальных животных при остром и длительном вариантах иммобилизационного стресса.

Получены новые данные о характере стресс-лимитирующего действия электромагнитного облучения терагерцевого диапазона на частоте атмосферного кислорода 129,0 ГГц.

Экспериментально обоснована перспектива использования электромагнитных волн терагерцевого диапазона на частотах активных клеточных метаболитов в клинической практике для нормализации гомеостатических показателей у больных терапевтического профиля.

Выводы и практические рекомендации основаны на фактическом материале, являются результатом решения стоявших перед диссертантом задач, представляют научный и практический интерес и не вызывают возражений.

Диссертация написана хорошим литературным языком. Имеющиеся опечатки не влияют на качество диссертации. Список литературы составлен по ГОСТу. Используются литературные источники, в основном, последних 3-5 лет.

В диссертации отсутствуют физиологические ошибки, материал изложен логично и последовательно.

Автореферат в полной мере отражает содержание диссертации, её основные положения и выводы.

Общие замечания и вопросы по работе

Безусловно, не все в работе идеально, но идеальных диссертаций не бывает. Иногда в работе встречается не совсем удачное цитирование источников литературы. Например: «В системе эндокринных желез гипофиз занимает особое положение [Киричук, 1994, 64 с.]. О гипофизе говорят как о «центральной» железе внутренней секреции [Киричук, Иванов, 2008, 99 с.]. Щитовидная железа, как и другие эндокринные железы, находится под постоянным контролем гипоталамо-гипофизарной системы. Для щитовидной железы гипоталамо-гипофизарная регуляция является ведущей [Филаретов, 1996, с. 3-11; Селятицкая, 1996, с. 103-107; Акмаев, 1999, с. 3-8].»

Хотелось бы видеть более четкую формулировку некоторых положений научной новизны данного исследования.

В главе 2 «Материалы и методы исследований» диссертант приводит описание методов исследования, которое занимает около 46 стр. По моему мнению, многие широко используемые методики можно было бы не описывать, а лишь ссылаться на источник литературы.

В работе имеется ряд неудачных выражений: «кровяная и тканевая протромбиназа...» Протромбиназа может образовываться по внешнему пути (с участием тканевого фактора) или внутреннему (с участием активированных тромбоцитов и их микровезикул). Неудачная фраза «...может выделяться тромбопластин...» в крови могут появляться микровезикулы (осколки мембран), несущие или не несущие тканевой фактор.

В работе не всегда верно расставляются запятые, есть описки.

Все замечания не носят принципиальный характер, и не касаются полученных диссертантом результатов и их обсуждения.

В дискуссионных целях хотелось бы от диссертанта получить ответы на следующие вопросы, возникшие при рецензировании данной работы:

1. С чем связано удлинение протромбинового времени, зарегистрированного автором работы при длительном варианте иммобилизационного стресса у экспериментальных животных?

2. Какие, по мнению автора работы, причины, механизмы и исходы коагулопатии потребления у длительно иммобилизованных крыс?

3. Не связано ли усиление фибринолитической активности крови при длительной иммобилизации у крыс с уменьшением уровня фибриногена и падением активности фактора XIII?

3. Какие практические рекомендации диссертант мог бы дать, согласно результатам собственных исследований?

Заключение

Диссертационная работа Цымбала Александра Александровича на тему «Закономерности и механизмы биологического действия электромагнитных волн терагерцевого диапазона на частотах активных клеточных метаболитов», является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком теоретическом и методическом уровне. Она посвящена решению актуальных проблем коррекции и профилактики нарушений показателей гомеостаза при стрессе, важных для практической и фундаментальной физиологии и медицины в целом.

По актуальности, методическому уровню, теоретической и практической значимости диссертационная работа «Закономерности и механизмы биологического действия электромагнитных волн терагерцевого диапазона на частотах активных клеточных метаболитов» полностью соответствует требованиям (в том числе п. 9), установленным Положением о присуждении ученых степеней, утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени доктора медицинских наук, а ее автор Цымбал Александр Александрович заслуживает присуждения искомой степени доктора медицинских наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Заслуженный деятель науки РФ,
доктор медицинских наук, профессор,
профессор кафедры нормальной физиологии
ГБОУ ВПО Читинская государственная
медицинская академия Минздрава России
672000, г. Чита, ул. Балябина, дом 1,
кафедра нормальной физиологии
Телефон: 8(3022) 32-16-23
Электронный адрес: bi_kuznik@mail.ru

Кузник Борис Ильич

Подпись профессора Б.И. Кузника удостоверяю



Начальник отдела кадров
ГБОУ ВПО ЧГМА Минздрава
России

Коржова Т.А.
2.04.2014