

Л. Блаевич

О Т З Ы В

официального оппонента на диссертационную работу Блаевич Любови Евгеньевны на тему «Роль тучных клеток и нейронов интрамуральных ганглиев в сокращении гладкой мускулатуры трахеи и бронхов крысы», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук в специализированный Диссертационный Совет Д 002.020.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Актуальность темы диссертации. Диссертационная работа Л. Е. Блаевич посвящена важной проблеме физиологической науки и медицины – изучению механизмов регуляции сократительной активности гладких мышц дыхательных путей. Именно эти механизмы во многом определяют характер и течение легочных заболеваний, связанных с развитием бронхиальной обструкции, таких как бронхиальная астма и хроническая обструктивная болезнь легких, занимающая четвертое место в мире по показателю смертности. Нарушение регуляции гладкомышечного тонуса воздухоносных путей ведет к прогрессирующему ограничению воздушного потока, рассогласованию вентиляции и легочной перфузии и, как следствие, формированию угрожающей жизни тяжелой дыхательной недостаточности. Рост распространенности обструктивных форм легочной патологии не в последнюю очередь связан с ухудшением экологической обстановки в мире. Воздействие агрессивных факторов окружающей среды может приводить к развитию гиперчувствительности сенсорных нервных окончаний, а при длительном воздействии, напротив, к их десенсибилизации и утрате способности адекватно реагировать на терапевтические препараты (например, резистентность к глюкокортикостероидам у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких).

Большое внимание сегодня уделяется изучению роли тучных клеток в формировании нейрогенных механизмов бронхиальной обструкции. Если критическая роль этих мультифункциональных клеток в патогенезе аллергических состояний общепризнанна, то их значение в развитии бронхиальной обструкции при неаллергических заболеваниях, например хронической обструктивной болезни легких, только начинают изучать. Достоинством данной диссертационной работы является исследование совместного влияния тучных клеток и нейронов функционального модуля на гладкомышечную активность различных отделов трахеобронхиального дерева, а также выбор оригинального экспериментального подхода, моделирующего воздействие

неблагоприятных факторов внешней среды. Установление определенных закономерностей иммуонейронального взаимодействия в регуляции тонуса гладких мышц дыхательных путей позволит приблизиться к пониманию механизмов нарушения бронхиальной проходимости в реальных клинических ситуациях.

Все вышесказанное свидетельствует о несомненной актуальности темы, ставшей предметом исследования Л.Е. Блажевич.

Научная новизна исследования состоит в выявлении особенностей взаимодействия тучных клеток и нейронов интрамурального ганглия и их роли в сокращении гладких мышц трахеобронхиального дерева в условиях, моделирующих активацию иммунной и автономной нервной системы при воздействии экзогенных факторов в диапазоне физиологической нормы. Определен сложный механизм влияния нуклеотида аденозина на сократительную активность гладких мышц, опосредованный активацией тучных клеток с выделением гистамина и терминалей С-волокон с выделением тахикининов, а также рефлекторно через нейроны интрамурального ганглия. Убедительно доказана модулирующая роль бронхиального эпителия в процессе нейроиммунного взаимодействия и гладкомышечного сокращения.

Научное и практическое значение работы. Результаты исследования являются важным вкладом в развитие фундаментальных знаний о механизмах регуляции сократительной функции гладких мышц воздухоносных путей. Существенно дополнены представления об участии тучных клеток и нервных структур интрамурального ганглия в регуляции сокращения гладкой мускулатуры трахеобронхиального дерева. Показана модулирующая роль эпителия в генерации ответов гладких мышц воздухоносных путей на действие веществ, имитирующих внешние стимулы. Результаты исследования имеют особое значение для клинической пульмонологии, так как многие легочные заболевания связаны с нарушением регуляторных механизмов гладкомышечных клеток бронхиальной стенки. Изучение особенностей сократительной активности бронхов способствует лучшему пониманию механизмов патогенеза обструктивных заболеваний легких и разработке новых подходов к коррекции функциональных расстройств. О большой практической значимости диссертации свидетельствует то, что ее результаты уже используются в образовательных циклах лекций по нормальной физиологии, нейрофизиологии и нейроиммунологии.

Структура диссертации. Диссертация изложена на 125 страницах машинописного текста, содержит одну таблицу, 8 рисунков и 30 графиков, иллюстрирующих результаты экспериментальных исследований. Диссертация имеет традиционную структуру и состоит из введения, четырех глав (обзора литературы, методов исследования, результатов

исследования, обсуждения результатов исследования), заключения, выводов и списка использованной литературы, включающего 143 источника (41 на русском и 102 на иностранных языках).

Во введении убедительно обосновывается актуальность предпринятого исследования, формулируются цель и задачи, основные положения, выносимые на защиту, научная новизна достигнутых результатов, их теоретическая и практическая значимость.

Обзор литературы состоит из 5 разделов общим объемом 40 страниц и отражает высокий уровень осведомленности автора о сложных механизмах иннервации дыхательных путей, нейрорецепторных взаимосвязях, медиаторных системах с акцентом на строение функционального модуля, представляющего своего рода интегративный центр управления гладкомышечным тонусом бронхов. Подробно излагаются современные взгляды на механизмы антигензависимой активации тучных клеток, опосредованные различными рецепторами, на внутриклеточные механизмы, приводящие к дегрануляции тучных клеток. Отдельные подразделы посвящены рассмотрению многочисленных медиаторов, содержащихся в гранулах тучных клеток и секретируемых при их дегрануляции, а также влиянию, которое они оказывают на сократительную активность гладких мышц бронхов. Анализ известных на сегодняшний день данных, касающихся функциональной взаимосвязи тучных клеток и нейронов автономной нервной системы легких, позволил определить круг пока нерешенных вопросов, которые и стали предметом диссертационного исследования. Обзор легко и с интересом читается, проиллюстрирован схемами, облегчающими восприятие излагаемого материала.

Во второй главе дано подробное описание процедуры приготовления изолированных препаратов трахеи и бронхов, методики регистрации сокращений гладкой мышцы, включая схему экспериментальной регистрирующей установки, приведен перечень фармакологических препаратов с обоснованием цели их использования. Хорошо продуманный дизайн исследования предусматривал проведение четырех больших экспериментальных серий, каждая из которых была логическим продолжением предыдущей и нацелена на решение поставленных перед исследованием задач. Опыты выполнены на 72 крысах, но учитывая, что от каждой особи брали по четыре образца трахеи и бронхов, то объем исследованного материала достигает весьма внушительной цифры. Приготовление качественных, «работающих» препаратов трахеи и бронхов, в том числе довольно мелких бронхов крысы 4-го порядка, – процесс довольно трудоемкий, требующий хирургических навыков, которыми автор сполна овладела, наряду с техникой электрофизиологического исследования. Количество исследованных образцов трахеи и

бронхов в экспериментальных группах вполне достаточно для получения достоверных результатов. Достоверность полученных данных подтверждена статистической обработкой результатов с помощью компьютерных статистических программ Excel.

В третьей главе изложены результаты собственных исследований, нацеленных на выявление роли взаимосвязанного влияния тучных клеток и нервных структур на сократительную активность гладкомышечного аппарата дыхательных путей. Для достижения этой цели использовались различные варианты опыта с блокадой и стимулированием участвующих в инициации сокращения гладкой мышцы нейроиммунных структур. Для активации тучных клеток и афферентных окончаний С-волокон использовались малые дозы аденозина и капсаицина, имитирующие воздействие внешних факторов, которым может подвергаться организм в обычных (не экстремальных) условиях существования. В работе получено убедительное подтверждение важной роли, которую играет бронхиальный эпителий, усиливая сокращение гладкой мускулатуры бронхов в результате секреции простагландинов, оказывающих констрикторный эффект. Доказано, что активация чувствительных окончаний С-волокон, которая может происходить под воздействием различных экзогенных факторов, усиливает сокращение гладких мышц и может стать причиной развития бронхообструктивного синдрома.

Важным наблюдением является установленный факт констрикторного влияния аденозина на гладкую мускулатуру дыхательных путей при всех вариантах опыта: капсаициновой блокаде С-волокон, подавлении дегрануляции тучных клеток, блокаде H₂-гистаминовых рецепторов, что может быть связано с широким представительством аденозиновых рецепторов на всех структурных элементах респираторного тракта, включая саму гладкую мышцу. Даже индометациновая блокада синтеза простагландинов эпителием снижала, но не устраняла констрикторный эффект аденозина. Еще один важный момент – это более выраженное констрикторное воздействие аденозина на гладкомышечную стенку бронхов в сравнении с трахеей, поскольку именно бронхи являются участком формирования обструктивных нарушений при заболеваниях легких. Показана возможность IgE-независимой активации тучных клеток, опосредованной аденозином, что крайне важно для понимания механизма развития воспаления и бронхиальной обструкции при неаллергических заболеваниях легких, таких как хроническая обструктивная болезнь легких.

Несомненный интерес представляют результаты исследования роли различных гистаминовых рецепторов в сокращении гладкой мышцы, индуцированном эндогенным гистамином. Гистамин, выделяющийся при дегрануляции тучных клеток, взаимодействуя с H₁-гистаминовыми рецепторами вызывает сокращение гладкой мышцы, а

взаимодействуя с H2- и, предположительно, с H3-рецепторами – дилатационный эффект. Подавление активности H1- и H2-рецепторов с помощью специфических блокаторов меняло характер сократительной реакции бронхов на противоположный.

Результаты исследования полностью соответствуют целям и задачам, сформулированным в диссертационной работе – в экспериментах на крысах раскрыты особенности нейроиммунного взаимодействия, определяющие характер сократительной активности гладких мышц респираторного тракта в условиях, имитирующих экзогенное воздействие в пределах физиологической нормы. Установлена роль тучных клеток, присутствующих под эпителием бронхов и в собственной пластине, в сокращении гладких мышц и обозначены возможные пути взаимодействия тучных клеток с нейронами интрамурального ганглия.

В четвертой главе полученные данные обобщаются и сопоставляются с результатами других исследователей. Обсуждение результатов свидетельствует о хорошем знании современного состояния изучаемой проблемы, глубоком научном анализе полученных результатов и намечает возможные направления для дальнейшего научного поиска.

Выводы диссертации основаны на полученных результатах и соответствуют поставленным цели и задачам. Личный вклад автора в разработку научной проблемы не вызывает сомнений.

По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ, из них три – в рецензируемых изданиях, две – в изданиях, рекомендованных ВАК по специальности «физиология». Результаты исследования неоднократно докладывались автором на научно-практических конференциях, в том числе с международным участием.

Принципиальных замечаний к диссертационной работе не имею. В тексте встречаются отдельные опечатки, орфографические ошибки, пропущенные слова. На рисунке 3.15 представлена амплитуда расслабления гладкой мышцы в мг, а подпись к рисунку гласит, что представлены изменения ответов гладкой мышцы в процентах. Указанные недочеты не умаляют научной значимости выполненной диссертационной работы.

Заключение. Диссертационная работа Л. Е. Блажевич «Роль тучных клеток и нейронов интрамуральных ганглиев в сокращении гладкой мускулатуры трахеи и бронхов крысы» является самостоятельным и завершенным научным исследованием. Содержит новые научно-практические результаты в области физиологии. По актуальности, объему выполненных исследований, научной новизне, научно-практической значимости полученных результатов диссертационная работа Л. Е. Блажевич полностью

соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а автор Блажевич Любовь Евгеньевна заслуживает присуждения ей искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Лебедева Елена Сергеевна

Почтовый адрес: 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6/8.

Контактные телефоны: 8-(812)-3887820; +7-921-3483429

E-mail: osmelena@mail.ru

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И. П. Павлова» Минздрава РФ.

Заведующая лабораторией экспериментальной пульмонологии и патоморфологии НИИ пульмонологии научно-клинического исследовательского центра, кандидат биологических наук

Дата: 07 апреля 2016 г.



Е. С. Лебедева

Подпись руки заверяю: Е.С. Лебедева

Вед. документовед: Т. Богатырева

«07» 04 2016г.