

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук, профессора, заведующего кафедрой физиологии человека и животных ФГАОУ ВО «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королёва» Инюшкина Алексея Николаевича на диссертацию Тумановой Татьяны Сергеевны на тему «Центральный контроль кровообращения и дыхания при моделировании эффектов эндотоксинемии», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 – физиология человека и животных в Диссертационный совет 24.1.137.01 (Д 002.020.01) по защите докторских и кандидатских диссертаций при ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН.

### Актуальность темы диссертации

Актуальность темы диссертационной работы, представленной Т.С. Тумановой, определяется тем, что эта работа посвящена малоизученным аспектам нервной регуляции функций висцеральных систем в условиях эндотоксинемии, сопровождающейся повышением системного уровня бактериального липополисахарида. В свою очередь, повышение уровня липополисахарида при системной или местной инфекции, приводит к выбросу провоспалительных цитокинов (фактора некроза опухоли-альфа, интерлейкинов), а затем – простагландинов и глюкокортикоидных гормонов. Каскад процессов, разворачивающихся в условиях эндотоксинемии, затрагивает практически все системы организма, включая нервную систему, кровообращение и дыхание. Важным аспектом представленной диссертационной работы является характеристика механизмов участия в реализации реакций на эндотоксемию областей префронтальной коры, входящих в состав центральной автономной сети, которая контролирует текущую активность систем кровообращения и дыхания, и модулирует рефлекторные механизмы этих систем. Формулируя цель и задачи диссертационного исследования, Т.С. Туманова исходила из гипотезы о том, что функциональное состояние центральной автономной сети и выраженность автономных рефлексов должны меняться в условиях эндотоксинемии под влиянием повышенного уровня провоспалительных цитокинов и глюкокортикоидов. Важно заметить, что к настоящему времени экспериментальных работ, посвящённых этой проблематике крайне недостаточно, и они носят в значительной степени фрагментарный характер. Учитывая все это, актуальность диссертационного исследования Т.С. Тумановой, посвящённого систематической характеристике состояния центральных нервных механизмов, контролирующих кровообращение и

дыхание в динамике развития эффектов повышения системного уровня бактериального липополисахарида, не вызывает сомнений.

#### **Степень обоснованности научных положений и выводов диссертации**

В диссертации Тумановой Т.С. использован экспериментальный подход к решению важной проблемы современной нейрофизиологии и физиологии висцеральных систем, а именно выяснению особенностей функционирования механизмов центрального контроля автономных функций при изменении состояния внутренней среды организма, вызванной повышением системного уровня бактериального липополисахарида. Научные положения и выводы, сформулированные в диссертации, основаны на полученных лично автором экспериментальных данных и подтверждены многочисленными цифровыми и иллюстративными материалами. Обоснованность основных научных положений и выводов, сделанных автором, не вызывает сомнений, поскольку цель и задачи исследования сформулированы корректно, задачи решены с использованием адекватных современных методик. Т.С. Тумановой грамотно спланирован дизайн каждой серии экспериментов, выполнены контрольные наблюдения, в каждой экспериментальной серии получен достаточный объем данных. При постановке экспериментов использован современный аппаратно-программный комплекс, цифровой материал подвергнут грамотной статистической обработке. Обоснованность научных положений и выводов диссертации Т.С. Тумановой подтверждается и тем, что основные результаты исследования опубликованы в 6 научных статьях в журналах рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, а также были многократно апробированы на съездах физиологов России и СНГ, на международных, всероссийских и иных научных конференциях.

#### **Значимость научных положений и выводов диссертации для науки и практики**

Научные положения и выводы диссертации Т.С. Тумановой имеют высокую теоретическую и практическую значимость. Они значительно расширяют и дополняют существующие представления о механизмах, реализующих нервный контроль функций кровообращения и дыхания в условиях эндотоксемии. В условиях острого эксперимента на анестезированных животных автору впервые удалось смоделировать состояние острой эндотоксинемии и получить приоритетные результаты, свидетельствующие о том, что в этом состоянии происходит значительное изменение функций центральной автономной сети и рефлекторных механизмов, осуществляющих регуляцию кровообращения и дыхания. Таким образом автором было впервые доказано, что причиной гемодинамических и дыхательных нарушений при эндотоксинемии могут быть не только повреждения

органов кровообращения и дыхания, но и изменения, возникающие на уровне механизмов их нервного контроля. На моделях, воспроизводящих последовательные этапы развития эндотоксинемии, автором доказана важная роль циклооксигеназного пути в реализации влияния гиперцитокинемии на рефлекс системы кровообращения и дыхания, а также впервые продемонстрировано влияние повышенного уровня глюкокортикоидов на центральную автономную сеть и барорефлекс. Эти результаты имеют большое значение для клинической практики. Они, в частности, доказывают, что терапия высокими дозами дексаметазона, которая широко применяется (например, при лечении больных с SARS), может приводить к нарушениям центральных нервных механизмов респираторного и гемодинамического контроля.

### **Структура, объём и содержание диссертации**

Диссертация построена по классическому плану, она состоит из введения, обзора литературных источников, описания объекта и методов исследования, четырёх глав, содержащих результаты собственных экспериментов и их обсуждение, заключения, выводов и списка использованной литературы, состоящего из 370 публикаций. Объём рукописи составляет 147 страниц, в неё включены 30 рисунков и одна таблица.

Введение выполнено традиционно, содержит все необходимые пункты. Автор обосновывает актуальность избранной темы диссертационной работы, формулирует её цель и 5 задач собственного экспериментального исследования, подробно описывает научную новизну, теоретическую и практическую значимость полученных результатов. Сформулированы положения, выносимые на защиту. Впечатляет список научных конференций, на которых были апробированы результаты исследований по теме диссертации (их более 30), а также список публикаций, выполненных по материалам диссертационной работы. В общей сложности опубликовано 43 научных работы, в том числе 6 статей в журналах из списка ВАК. Не вызывает сомнения определяющий личный вклад автора в подготовку этих публикаций.

В обзоре литературных источников подробно проанализированы современные концепции нервной регуляции вегетативных функций, нейрофизиологические механизмы контроля кровообращения и дыхания; охарактеризовано состояние эндотоксинемии и системной воспалительной реакции и способы их моделирования; описаны вещества из группы провоспалительных цитокинов и процесс их индукции при повышении системного уровня эндотоксина; дана характеристика гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси и описаны механизмы её активации в условиях эндотоксинемии. Обзор отличается полнотой, глубиной анализа, он свидетельствует о хорошей эрудиции автора в исследуемой

проблеме, позволяет понять логику диссертационного исследования, постановки его цели и задач.

Вторая глава диссертации содержит детальное описание объекта и методов исследования. Описана хирургическая подготовка животного к эксперименту, способ забора и методика анализа образцов крови, методы регистрации параметров кровообращения и дыхания, тестирования рефлексов и электрической микростимуляции коры головного мозга, методики гистологического контроля, детали использования аппаратно-программного комплекса для сбора, хранения и обработки данных. Необходимое внимание уделено методам статистической обработки экспериментальных данных. Необходимо отметить комплексное использование большого количества современных экспериментальных методов, многие из которых отличаются сложностью и трудоёмкостью, что позволяет охарактеризовать Т.С. Туманову как высококвалифицированного экспериментатора, а также сделать вывод о воспроизводимости использованных методов и их адекватности поставленным задачам.

В третьей главе диссертации описаны результаты изучения влияния эндотоксина на количество и состав лейкоцитов крови анестезированной крысы. Эти эксперименты было необходимо провести для решения первой задачи диссертационного исследования, которой была заявлена верификация адекватности предлагаемой модели эндотоксинемии. Автор провела три серии экспериментов, что позволило отделить эффекты эндотоксина от возможного влияния хирургического вмешательства. Важнейшим результатом экспериментов, описанных в этой главе, была демонстрация того, что в условиях острого эксперимента, проводимого под уретановой анестезией, эндотоксин вызывает у крыс нейтрофильную лейкопению, то есть воспроизводит эффект, аналогичный тому, что развивается при системной воспалительной реакции.

Четвёртая глава, наибольшая по объёму, содержит результаты пяти серий экспериментов, в которых изучено влияние липополисахарида на параметры кровообращения и дыхания анестезированной крысы, на барорефлекс и инспираторно-тормозящий рефлекс Геринга-Брейера, а также на эффект электрической микростимуляции инфраламбической коры. Установлено, что введение липополисахарида вызывает сначала повышение, а затем снижение артериального давления и повышение частоты сердечных сокращений. Также наблюдалось увеличение дыхательного объёма, приводившее к росту вентиляции лёгких. Одновременно липополисахарид ингибировал барорефлекторную чувствительность, инспираторно-тормозящий рефлекс и депрессорные ответы на стимуляцию инфраламбической коры. Тем самым было завершено решение первой

задачи экспериментального исследования, заключающейся в верификации экспериментальной модели, поскольку было установлено, что введение липополисахарида не только изменяет состав белой крови, но и вызывает реакции систем кровообращения и дыхания. При этом изменения состояния трёх перечисленных автономных систем оказались близкими к проявлениям синдрома системной воспалительной реакции. Кроме того, была решена и вторая задача диссертационного исследования, поскольку было показано, что повышение системного уровня липополисахарида ослабляет рефлексы кардиореспираторной системы и депрессорную реакцию на электрическую микростимуляцию инфраламбической коры анестезированной крысы. По мнению автора, последнее, очевидно, свидетельствует об изменении состояния центральной автономной сети в данных экспериментальных условиях.

Пятая глава диссертации посвящена моделированию эффектов гиперцитокинемии, которая является обычным следствием эндотоксинемии. Для решения третьей и четвертой задач диссертационного исследования автором было разработано 2 экспериментальных протокола и проведено 6 серий экспериментов. Было установлено, что внутривенное введение одного из важнейших провоспалительных цитокинов – фактора некроза опухоли (ФНО) повышает артериальное давление, частоту сердечных сокращений, дыхательный объём и минутный объём дыхания. Наряду с этим, происходило усиление барорефлекса и ослабление инспираторно-тормозящего рефлекса Геринга-Брейера. Обнаруженные эффекты ФНО не проявлялись если введение цитокина предварялось инъекцией диклофенака – селективного ингибитора циклооксигеназы второго типа, что доказывает участие простагландинов в реализации обнаруженных эффектов.

В шестой, завершающей главе диссертации содержатся результаты экспериментов, в которых при помощи внутривенных инфузий глюкокортикоидного гормона дексаметазона производилось моделирование состояния повышенной активности гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси. Известно, что усиленная продукция глюкокортикоидов происходит в условиях эндотоксинемии и является следствием подъёма уровня провоспалительных цитокинов. Автором установлено, что дексаметазон усиливает барорефлекс и ингибирует модулирующее влияние стимуляции коры на этот рефлекс, что указывает на изменение состояния центральной автономной сети. Интересно, что дексаметазон не оказывал влияния на депрессорные ответы системы кровообращения. Автор подчёркивает это обстоятельство и вполне резонно объясняет его тем, что депрессорный и модулирующий эффекты стимуляции коры могут реализовываться разными путями.

Следует отметить, как несомненное достоинство работы, что все экспериментальные главы диссертации Т.С. Тумановой построены по единому плану: краткое введение, описание экспериментальных протоколов, описание собственно результатов исследования и их подробное обсуждение с опорой на достаточное количество литературных источников в заключительном разделе каждой главы.

В Заключении автор подводит итоги проведенных исследований, резюмируя полученные результаты.

Выводы, их пять, полностью основаны на полученных результатах, сформулированы лаконично и методологически корректно.

Содержание диссертации с необходимой полнотой отражено в автореферате и соответствует специальности 1.5.5 – физиология человека и животных.

#### **Вопросы и замечания.**

Замечания по оформлению работы. В работе встречаются отдельные синтаксические ошибки (например, на стр. 7, строки 5 и 14, стр. 8, строка 32, стр. 76, строка 7 и др.).

При рецензировании возникло несколько вопросов для обсуждения и дискуссии.

Вопрос 1. Наблюдались ли изменения температуры тела животного после введения бактериального липополисахарида и не являются ли наблюдавшиеся эффекты следствием подъема температуры?

Вопрос 2. Почему для оценки состояния респираторных механизмов системы дыхания был выбран инспираторно-облегчающий рефлекс Геринга-Брейера, но не исследовался экспираторно-облегчающий рефлекс?

Вопрос 3 касается статистической обработки данных. В разделе «Статистическая обработка экспериментальных данных» сообщается, что данные представлены как средние арифметические  $\pm$  стандартная ошибка среднего. Это подтверждается статистическими данными, представленными на рисунках. В связи с этим возникает вопрос о том, производилась ли проверка нормальности распределения данных в выборках, и если да, то с помощью какого теста?

Вопрос 4. Для моделирования эндотоксинемии в работе использован популярный метод системного введения липополисахарида. Существуют ли альтернативные методы моделирования эндотоксинемии и в чем преимущества выбранной методики перед другими?

Разумеется, что эти вопросы не ставят под сомнение полученные результаты и не умаляют научную ценность рецензируемой диссертации.

**Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным  
Положением о порядке присуждения учёных степеней**

Диссертация Тумановой Татьяны Сергеевны на тему «Центральный контроль кровообращения и дыхания при моделировании эффектов эндотоксинемии» является законченной самостоятельной научно-квалификационной работой, содержащей решение научной задачи, имеющей значение для физиологии человека и животных. По своей актуальности, объёму выполненных исследований, методическому уровню, научной новизне, теоретической и практической значимости полученных результатов диссертация «Центральный контроль кровообращения и дыхания при моделировании эффектов эндотоксинемии» полностью соответствует критериям «Положения о порядке присуждения учёных степеней» утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 №842, п.п. 9-14 (в редакции Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г., №335), а её автор, Туманова Татьяна Сергеевна, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 – физиология человека и животных.

**Официальный оппонент**

Заведующий кафедрой физиологии  
человека и животных Самарского  
университета,  
доктор биологических наук,  
профессор



Инюшкин Алексей Николаевич

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева».

Адрес: Московское шоссе, д. 34, г. Самара, 443086

тел. 8 (846) 267-43-70

эл. почта inyushkin.an@ssau.ru  
ainyushkin@mail.ru

сайт <https://ssau.ru>

