

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук, профессора, заведующего кафедрой адаптивной физической культуры Института медицины, экологии и физической культуры ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» Балыкина Михаила Васильевича на диссертационную работу Барановой Елизаветы Владимировны «Механизмы сочетанного влияния острой нарастающей гипоксии и провоспалительных цитокинов на кардиореспираторную систему», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. - «Физиология человека и животных».

Актуальность. Исследование механизмов компенсации и адаптации к гипоксии является одной из важных задач физиологии человека и животных. Известно, что гипоксия может быть сопряжена с целым рядом причин, включая изменения газового состава воздуха, нарушения функций газотранспортных систем, обмена веществ и т.д. Выраженная гипоксия любого генеза, является стрессом, который сопровождается мобилизацией компенсаторно-приспособительных реакций, возникновением морфофункциональных изменений в органах и тканях, которые могут приобретать характер пред- и/или патологических. Появление признаков дизадаптации, независимо от генеза гипоксии, проявляется интегративными реакциями организма, включая иммунный ответ и системное повышение провоспалительных цитокинов, обеспечивающих взаимодействие иммунной системы с другими системами организма, включая кислородтранспортную, эффективность которой является ключевым звеном компенсации дефицита кислорода. В этой связи изучение реактивных изменений и механизмов регуляции отдельных звеньев кислородтранспортной системы на фоне высокого системного содержания провоспалительных цитокинов при нарастающей гипоксии является актуальной проблемой экспериментальной и клинической физиологии.

Научная новизна полученных результатов

Автором разработана модель гипоксического апноэ, которая в сочетании с высоким уровнем провоспалительных цитокинов моделирует условия острой дыхательной недостаточности, на фоне системной воспалительной реакции. В результате получены новые сведения о влиянии некоторых провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ФНО- α и ИЛ-6) на изменения внешнего дыхания и показатели гемодинамики при действии нарастающей гипоксии. Установлены приоритетные данные, свидетельствующие, что высокий уровень ИЛ-1 β в плазме крови снижает устойчивость к острой нарастающей гипоксии, ограничивает возможность спонтанного возобновления дыхания после апноэ и повышает уровень летальности животных в постгипоксическом периоде.

Получены новые сведения о том, что ингибирование циклооксигеназной активности (неселективный ингибитор циклооксигеназной активности - диклофенак) модифицирует действие ИЛ-1 β при нарастающей гипоксии: изменяет реактивность кардиореспираторной системы, повышает индивидуальную устойчивость к гипоксии и процент выживаемости животных.

Степень достоверности и обоснованности научных положений и выводов диссертации

Диссертационная работа Барановой Елизаветы Владимировны выполнена на высоком научно-методическом уровне с применением оборудования и информативных физиологических методик адекватных решению поставленных задач, на материале, достаточном для получения аргументированных положений, выявления и установления закономерностей. Сформулированные в диссертации выводы обоснованы экспериментально и логически вытекают из основных результатов диссертационного исследования. Представленный в работе иллюстративный материал обеспечивает объективное восприятие цифрового материала.

Статистический анализ данных проведен с использованием пакетов программ Statistica 10.0 (Windows) и Microsoft Office Excel 2020, теста Колмогорова-Смирнова, парного критерия Стьюдента и двухфакторного дисперсионного анализа (ANOVA).

Основные положения диссертационного исследования доложены на Всероссийских и Международных конференциях. По теме диссертации опубликованы 43 печатные работы, в том числе 9 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ, а также в изданиях, входящих в базы RSCI, Scopus и Web of Science.

Теоретическая и практическая ценность работы

Результаты исследования расширяют представления о компенсаторно-приспособительных реакциях внешнего дыхания и гемодинамики при разных уровнях нормобарической гипоксии, вплоть до экстремальных, сопровождающихся остановкой дыхания. Моделирование гиперцитокинемии, установленная роль провоспалительных цитокинов в изменении реактивности кардиореспираторной системы расширяют представления о механизмах компенсации и устойчивости к гипоксии, открывают возможности для и поиска новых гипоксипротекторов. В частности, установленные эффекты диклофенака, неселективного ингибитора простагландинов, могут служить экспериментальной предпосылкой для поиска путей его использования в качестве гипоксипротектора при коррекции состояния пациентов с гиперцитокинемией на фоне гипоксии различного генеза. Результаты диссертационной работы могут быть рекомендованы для включения в курс нормальной и патологической физиологии в ВУЗах медицинского и биологического профиля.

Общая характеристика, структура и оформление диссертации

Диссертация изложена на 146 страницах машинописного текста, имеет стандартную структуру и содержит все необходимые разделы. Текст

диссертации включает список основных сокращений, введение, литературный обзор, описание объекта и методов исследования, четырех глав, с изложением результатов, в которых сформулированы частные задачи, представлено подробное описание полученных данных, их обсуждение и выводы по каждому разделу, общее заключение и выводы, список литературы, который включает 220 публикаций, в том числе 143 зарубежных работы.

Материал диссертации изложен в логичной последовательности, содержит 8 таблиц и 40 рисунков, что является достаточным для восприятия и интерпретации представленных данных.

Во Введении дано краткое обоснование актуальности работы, показана степень разработанности темы, объяснение методологии и методических подходов, адекватных для достижения поставленной цели и решения пяти задач исследования. В разделе подробно изложена научная новизна работы, ее теоретическая и практическая значимость, положения, выносимые на защиту, приведены сведения о публикациях и апробации результатов исследования, структуре и объеме работы.

Литературный обзор представлен на 34 страницах текста, включает в себя четыре раздела. В первом разделе представлены общие представления о физиологии гипоксических состояний, их классификации, проведен анализ существующих подходов, имитирующих гипоксию, их сравнительные характеристики. Второй раздел посвящен рассмотрению механизмов регуляции дыхания и роли периферических хеморецепторов в реализации приспособительных реакций, представлены патологические типы дыхания, развивающиеся при изменениях газового состава крови. Третий раздел обзора посвящен интегративным реакциям внешнего дыхания и сердечно-сосудистой системы на гипоксию, взаимодействию дыхательного и сосудодвигательного центров. Отдельный раздел обзора посвящен роли цитокинов в регуляции физиологических функций. Представлены их классификация, биологические свойства, характеристики. Особое место в

разделе отводится характеристикам провоспалительного интерлейкина (ИЛ-1), показана его роль в формировании комплексных реакций, направленных на локализацию и стабилизацию инфекционного процесса, роль в экспрессии ряда про- и противовоспалительных цитокинов. Проведен анализ данных литературы о влиянии провоспалительных цитокинов на регуляцию дыхания при развитии и прогрессировании легочных патологий, хронических заболеваниях органов дыхания.

В разделе «Объект и методы исследования» автор подробно описывает подготовку животных к эксперименту, методики определения внутригрудного (плеврального) и артериального давления, сатурации крови, регистрации объемно-временных параметров дыхания (пневмотахография). Модель нарастающей гипоксии, в основе которой лежит метод возвратного дыхания, позволила обеспечить постепенное снижение содержания O_2 в газовой смеси и имитировать нарастающую гипоксию, при постоянном контроле газового состава вдыхаемого, выдыхаемого воздуха и оксигенации артериальной крови. Предложенная автором модель нарастающей гипоксии позволила достаточно точно отследить динамику кардиореспираторных реакций в контроле и при экспериментальных воздействиях, при введении в кровеносное русло провоспалительных цитокинов и их ингибиторов. Раздел иллюстрирован схемами и рисунками, которые дают полную информацию об эксперименте и его реализации. Нужно отметить, что материал изложен в логической последовательности, используемые в эксперименте методы информативны и адекватны решению поставленных задач.

Результаты исследования представлены в четырех главах. В трех разделах главы 3.1 представлены реакции респираторной системы и системной гемодинамики на нарастающую гипоксию у интактных крыс. Установлена динамика объемно-временных показателей внешнего дыхания в широком диапазоне гипоксической гипоксии – от нормоксии до критических уровней содержания O_2 , при которых наступало апноэ, представлены характеристики дыхательного паттерна и изменения гемодинамики в

терминальной фазе, предшествующей остановке дыхания, при остановке дыхания и в период восстановления кардиореспираторной функции, после перехода на дыхание атмосферным воздухом. В обсуждении экспериментальных данных главы автор подробно рассматривает реактивные изменения кардиореспираторной системы и оценивает их как нарушение центральных механизмов регуляции дыхания и кровообращения при гипоксии, доказательно обосновывая первое положение диссертации, выносимое на защиту.

Глава 4 посвящена обоснованию второго положения, выносимого на защиту. В первом разделе главы рассмотрено влияние ИЛ-1 β , ФНО- α и ИЛ-6 на параметры кардиореспираторной системы в условиях нормоксии. При сравнительном изучении действия цитокинов установлено, что повышение их системного уровня приводит к различным количественным изменениям изучаемых параметров дыхательной и сердечно-сосудистой системы. Установлено, что при схожих по направленности изменениях кардиореспираторной системы, повышение ИЛ-1 β приводит к наиболее выраженному количественному увеличению минутной вентиляции легких, дыхательного объема и частоты дыхания, на фоне снижения артериального давления и сатурации крови, что послужило экспериментальным обоснованием для направленного изучения этого цитокина при моделировании гипоксии.

В рамках раздела 4.2. изучено влияние ИЛ-1 β на параметры кардиореспираторной системы в условиях нарастающей гипоксии. Рассмотрено влияние ИЛ-1 β на реакции внешнего дыхания (4.2.1.), системную гемодинамику (4.2.2.) и оксигенацию крови (4.2.3). Представленные в данные свидетельства, что повышение системного уровня ИЛ-1 β при острой нарастающей гипоксии угнетает реакции легочной вентиляции, способствует более ранней остановке дыхания при меньшей степени гипоксической гипоксии (8-7%O₂) и более выраженной гипоксемии (26%O₂), что выглядит убедительно, на фоне возникновения апноэ в

контрольной группе при содержании O_2 во вдыхаемом воздухе 4-3% и оксигенации крови $39 \pm 5\%$.

Обоснованию третьего положения, выносимого на защиту, посвящена пятая глава диссертации, в которой представлены результаты исследования о влиянии оксида азота на механизмы действия провоспалительного цитокина ИЛ-1 β при нарастающей нормобарической гипоксии. В трех разделах главы рассматривается влияние ИЛ-1 β на реакции внешнего дыхания, сатурацию крови и параметры гемодинамики на фоне введения L-NAME, неселективного ингибитора NO-синтазной активности. Представленные в разделе результаты показали, что при повышении системного уровня ИЛ-1 β как при нормоксии, так и при гипоксии, имеет место снижение артериального давления, причиной которого может служить усиленный синтез оксида азота, вызванный взаимодействием ИЛ-1 β с соответствующими рецепторами сосудистого эндотелия. При оценке влияния ИЛ-1 β на респираторные реакции установлено, что NO-ергические механизмы участвуют в их реализации преимущественно в условиях нормоксии. Результаты исследования показали, что ингибирование NO-синтазной активности не влияет на степень снижения гипоксического прироста МОД, ДО и инспираторных колебаний внутригрудного давления при повышении системного уровня ИЛ-1 β . При этом установлено, что ингибирование NO-синтазной активности устраняет влияние ИЛ-1 β на степень снижения сатурации артериальной крови при гипоксии.

В шестой главе рассмотрена роль простагландинов в механизмах влияния провоспалительного цитокина ИЛ-1 β на реакции кардиореспираторной системы в условиях нарастающей гипоксии. Концептуальной основой этой серии исследований, результаты которой представлены в четырех разделах главы, явилось изучение роли циклооксигеназных путей в модуляции реакций кардиореспираторной системы на нарастающую гипоксию на фоне повышенного системного уровня ИЛ-1 β . Для реализации этой концепции использовался

неселективный блокатор циклооксигеназы – диклофенак, который блокирует ее изоферменты, образующиеся под воздействием цитокинов, запускающих воспалительную реакцию. Показано, что предварительное введение диклофенака ослабляет влияние ИЛ-1 β и повышает уровень вентиляторного ответа на действие острой гипоксии. При этом наряду с вентиляторным ответом, нивелируются эффекты выраженного снижения сатурации крови и изменений гемодинамики, которые отмечаются на фоне высокого уровня ИЛ-1 β . Результаты исследования обосновывают четвертое положение, выносимое на защиту и свидетельствуют, что предварительное ингибирование циклооксигеназной активности не только оптимизирует реакции кардиореспираторной системы, но и удлиняет временной период до возникновения апноэ, восстанавливает до контрольного уровня коэффициент индивидуальной устойчивости к гипоксии и процент выживаемости животных при действии ИЛ-1 β .

В Заключение автор обобщает результаты исследования, проводит анализ механизмов регуляции дыхания и гемодинамики при нарастающей гипоксии, характер их изменений на фоне высокого уровня ИЛ-1 β , оценивает роль ингибиторов оксида азота и циклооксигеназных путей в модуляции реакций кардиореспираторной системы. По материалам проведенного исследования сформулированы 6 выводов, которые соответствуют поставленным цели, задачам и положениям, выносимым на защиту. Автореферат оформлен в соответствии с установленными требованиями и полностью отражает основное содержание диссертации.

Вопросы и замечания.

1. В работе установлено, что при моделировании гипоксии (8 % O₂ и ниже), на фоне повышенного системного уровня провоспалительного цитокина ИЛ-1 β , наблюдается падение АД. При интерпретации результатов автор логично ставит во главу угла влияние гипоксии на центральные и местные механизмы регуляции сосудистого тонуса. В этой связи возникает вопрос: не является ли

одной из важных причин изменения АД, снижение сократительной способности миокарда в условиях развивающейся острой тканевой гипоксии?

2. В исследовании показано, что при подавлении NO-синтазной активности в гипоксических условиях (10%O₂) сатурация крови снижается в меньшей степени, чем контрольной и экспериментальной (высокий уровень ИЛ-1β) группах. Каковы возможные механизмы этих различий?

3. В сериях исследования, посвященных оценке циклооксигеназных путей и роли NO-зависимых механизмов в реакциях кардиореспираторной системы на острую гипоксию, введение L-NAME – неселективного ингибитора синтазы оксида азота и неселективного блокатора циклооксигеназ (диклофенак), предшествовало инъекции ИЛ-1β. Чем обоснована такая последовательность?

Принципиальных замечаний по оформлению и содержанию работы нет.

Заключение. Диссертационная работа Барановой Елизаветы Владимировны «Механизмы сочетанного влияния острой нарастающей гипоксии и провоспалительных цитокинов на кардиореспираторную систему», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. - «Физиология человека и животных», является законченной научно-квалификационной работой, результаты которой имеют важное значение для развития научных знаний в области физиологии адаптации, связанных с пониманием интегративных, компенсаторно-приспособительных реакций при гипоксии разного генеза. По методическому уровню, новизне и научно-практической значимости работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, пп. 9-14 (в редакции Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г., № 335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор - Баранова

Елизавета Владимировна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. - «Физиология человека и животных»

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, профессор,
заведующий кафедрой адаптивной физической культуры
Института медицины, экологии и физической культуры
ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет»,
доктор биологических наук (по специальности –
03.00.13 – физиология человека и животных)



М.В. Балыкин

22.11.2022

432017, Российская Федерация, г. Ульяновск,
улица Льва Толстого, дом 42, ФГБОУ ВО
«Ульяновский государственный университет»

Т.89603695455; balmv@yandex.ru

