

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Ольги Евгеньевны Смирновой «Роль некоторых медиаторов и цитокинов тучных клеток и нейронов интрамурального ганглия в сокращении мышцы трахеи и бронхов крысы», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 – физиология человека и животных в Диссертационный совет 24.1.137.01 по защите докторских и кандидатских диссертаций при Институте физиологии им. И. П. Павлова РАН.

Вопрос о взаимодействии нейронов интрамурального ганглия и биологически активных веществ, выделяемых тучными клетками, в настоящий момент является одной из фундаментальных проблем физиологии. Известно, что во многих тканях и органах тучные клетки располагаются вблизи терминалей аксонов нейронов автономной нервной системы. Медиаторы и цитокины, выделяемые тучными клетками, оказывают влияние как на нейроны интрамуральной нервной системы, так и на гладкомышечные клетки. Нейромедиаторы, выделяемые из терминалей нейронов, способны оказывать воздействие на тучные клетки, вызывая их дегрануляцию. В результате дегрануляции тучные клетки выделяют большое количество биологически активных веществ – медиаторов, цитокинов, лейкотриенов, ферментов, факторов роста и других. Среди медиаторов тучных клеток наиболее значимыми являются гистамин, серотонин, аденозин. Среди тучноклеточных цитокинов можно выделить фактор некроза опухоли- $\alpha$ , интерлейкин-2, интерлейкин-3, интерлейкин-4, интерлейкин-5, интерлейкин-6, интерлейкин-8 и интерлейкин-13. Обозначенные группы веществ оказывают прямое или опосредованное влияние на гладкомышечные клетки, что приводит к изменению их двигательной активности. В системе нижних дыхательных путей это изменения проявляется в виде бронхоконстрикции и бронходилатации. Особое значение эти процессы приобретают в условиях патологического процесса, развивающегося при бронхиальной астме аллергической этиологии. Однако роль некоторых тучноклеточных медиаторов и цитокинов в сокращении гладкой мышцы трахеи и бронхов крысы в нормальных и патологических физиологических условиях изучена недостаточно. Так же не достаточно сведений о роли медиаторов в сокращении мышцы трахеи и бронхов с учетом влияния интрамурального ганглия в условиях модели бронхиальной астмы. Практически отсутствуют сведения о роли цитокинов в сокращении мышцы нижних дыхательных путей крысы в условиях модели бронхиальной астмы с учетом интрамурального ганглия. Поэтому диссертационное исследование О. Е. Смирновой следует признать актуальным с теоретической и практической точки зрения.

Целью исследования являлось выявление роли некоторых медиаторов и цитокинов тучных клеток и нейронов интрамурального ганглия в сокращении мышцы трахеи и бронхов в норме и в условиях модели бронхиальной астмы.

Научная новизна проведенного исследования состоит в том, что впервые показано, что интрамуральный метасимпатический ганглий оказывает влияние на цитокин-опосредованное мышечное сокращение. В работе впервые установлена роль фактора некроза опухоли- $\alpha$ , интерлейкина-4, интерлейкина-6 и интерлейкина-13 в сокращении мышцы трахеи и бронхов крысы в нормальных физиологических условиях и условиях экспериментальной модели бронхиальной астмы. Показано, что интрамуральный метасимпатический ганглий оказывает влияние на степень экспрессии цитокиновых рецепторов и генов IL-4R, IL-6R, IL-13R, TNF- $\alpha$ R. Установлено, что в условиях физиологической нормы ведущая роль в сокращении гладкой мышцы трахеи и бронхов крысы принадлежит метасимпатическому интрамуральному ганглию, а в условиях овальбумин-индуцированной астмы - механизмам, связанным с тучными клетками.

Диссертация изложена на 191 странице и состоит из введения, обзора литературы, методов исследования, результатов исследования, обсуждения результатов исследования, выводов, заключения, списка литературы, включающего 23 источника на русском и 385 источников на иностранном языке. Работа содержит 21 таблицу и 70 рисунков.

Введение к диссертации написано ясно и содержит общую характеристику проблемы, которая решается в ходе исследования. Четко определены цель, задачи, объект и методы исследования, описана научная новизна полученных результатов, их теоретическое и практическое применение. Приводятся сведения об апробации работы, формулируются основные положения, выносимые на защиту.

Глава 1, обзор литературы, содержит достаточный объем современных сведений, относящихся к предмету исследования. Автором рассматривается иннервация нижних дыхательных путей: нейроны ганглиев, рецепторы нижних дыхательных путей, медиаторные системы. Много внимания в этой главе уделено тучным клеткам. Приводится подробная информация о тучноклеточных медиаторах – гистамине, аденозине, серотонине - и цитокинах - факторе некроза опухоли- $\alpha$ , интерлейкине-4, интерлейкине-6 и интерлейкине-13. Раскрывается роль тучных клеток в патогенезе бронхиальной астмы. Приведены сведения о взаимодействии тучных клеток с нейронами интрамуральных ганглиев в нормальных и патологических физиологических условиях. Глава «Обзор литературы» свидетельствует о хорошей эрудиции автора в выбранной им теме для исследования.

Глава 2 посвящена методам исследования и содержит их достаточно подробное описание. Выбранные автором методы соответствуют поставленным в начале исследования цели и задачам.

Глава 3 является объемной и самой важной частью диссертации. Она содержит результаты хорошо спланированных и проведенных экспериментов. Ее содержание демонстрирует, как автор решает поставленные задачи и достигает цели исследования. Глава состоит из четырех разделов. Раздел 3.1 содержит результаты механографических исследований и посвящен выявлению роли тучных клеток в сокращениях гладкой мышцы трахеи и бронхов. Рассматривается роль аденозина, серотонина, гистамина, фактора некроза опухоли- $\alpha$ , интерлейкина-4, интерлейкина-6 и интерлейкина-13 в сокращениях мышцы трахеи и бронхов в нормальных физиологических условиях и в условиях экспериментальной модели овальбумин-индуцированной астмы в препаратах с ганглиями и без них. Так же рассмотрена роль блокады аденозиновых, серотониновых, гистаминовых рецепторов в сокращении мышцы трахеи и бронхов животных с астмой. В разделе 3.2 представлены результаты механографического исследования по определению роли нейронов интрамурального ганглия в сократительной способности мышцы трахеи и бронхов. Здесь рассматривается роль капсаицин-чувствительных С-волокон и нервных путей, проходящих через различные холинергические рецепторы, в сокращении мышцы нижних дыхательных путей. В разделе 3.3 представлены результаты молекулярно-генетического исследования. Здесь приводятся данные об изменении уровней экспрессии генов IL4R, IL6R, IL13R, TNF- $\alpha$ R в тканях трахеи и бронхов контрольных и экспериментальных крыс. Раздел 3.4 посвящен результатам иммуногистохимического исследования. В разделе приводятся сведения об изменении количества клеток в тканях трахей и бронхов, экспрессирующих молекулы цитокиновых рецепторов. Приводится сравнение уровня экспрессии клетками цитокиновых рецепторов в препаратах контрольных и экспериментальных животных. Так же здесь показаны различия между количеством клеток, синтезирующих цитокиновые рецепторы в препаратах трахей и бронхов с ганглиями и без них.

Глава 4 содержит последовательное обсуждение полученных результатов. В данной главе обсуждается роль медиаторов, цитокинов и нейронов интрамурального метасимпатического ганглия в сокращении мышцы трахеи и бронхов. Обсуждение полученных результатов сделано грамотно, включает сравнительные графики с привлечением достаточного количества литературных источников.

Выводы сформулированы корректно, соответствуют поставленным в начале исследования задачам и основаны на результатах проведенного экспериментального исследования.

В заключении автор диссертации сжато резюмирует полученные результаты.

Замечания.

1. В тексте диссертации имеются отдельные неудачные выражения. Например: «Автономные возбуждающие холинергические нервы выделяют ацетихолин в гладкомышечные клетки бронхов и подслизистые железы», «Повышенная активность холинергических нейронов является медиаторами гиперреактивности дыхательных путей при астме», «центр интеграции мозга», «блуждающих ганглиях», «Сшивание комплексов FcεRI на поверхности тучных клеток инициирует мобилизацию цитоплазматического Ca<sup>2+</sup>», «При связывании антигена со своими поверхностными рецепторами тучные клетки высвобождают сократительные медиаторы». Так же местами в тексте встречаются грамматические ошибки и нарушения склонения слов.

2. Принято, что латинские названия генов приводятся курсивом, а белков – прямым шрифтом.

3. В разделе «3.4 Результаты иммуногистохимического исследования» вместо контрольной и опытной групп приводятся результаты «норма» и «патология». Тем не менее, эти замечания носят редакторский или даже корректорский характер и не снижают положительной оценки диссертации.

Для дискуссии хотелось бы получить ответы на некоторые вопросы:

1. Каким образом подтверждалось, что препараты содержат/не содержат ганглии? Проводилась ли гистологическая верификация?

2. Как подтверждалась специфичность антител в иммуногистохимическом исследовании?

3. В главе «3.2 Результаты механографии по определению роли нейронов интрамурального ганглия в сократительной способности мышцы трахеи и бронхов» приводятся результаты по контрольной и экспериментальной группам, без выделения препаратов с ганглиями и с их отсутствием. Оценивались ли и имелись ли достоверные различия между препаратами с интрамуральными ганглиями и без них в опытной и контрольной группах?

4. Можете ли доказать, что указанные параметры раздражения изолированных препаратов приводят к раздражению именно постганглионарных волокон?

Несмотря на сделанные выше замечания содержание рукописи диссертации и автореферата свидетельствуют о том, что диссертация О. Е. Смирновой «Роль некоторых медиаторов и цитокинов тучных клеток и нейронов интрамурального ганглия в сокращении мышцы трахеи и бронхов крысы» является самостоятельным и завершённым научным исследованием, в котором содержится решение задачи, имеющей значение для развития биологии и медицины. Работа обладает внутренним единством, содержит новые научные результаты, выдвигаемые для публичной защиты, и свидетельствует о личном вкладе автора в науку. Основные результаты работы отражены в 23 публикациях, среди которых 4 публикации в журналах, входящих действующий Перечень ведущих рецензируемых научных журналов (ВАК РФ). Материала диссертации прошли апробацию на международной и всероссийских конференциях.

Считаю, что диссертация «Роль некоторых медиаторов и цитокинов тучных клеток и нейронов интрамурального ганглия в сокращении мышцы трахеи и бронхов крысы» соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Ольга Евгеньевна Смирнова, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 – физиология человека и животных.

проректор по НИР,  
заведующий кафедрой нормальной физиологии и  
биофизики Федерального государственного  
бюджетного образовательного учреждения  
высшего образования «Ярославский  
государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской  
Федерации, доктор медицинских наук, профессор



П. М. Маслюков

4 августа 2022 г.

Маслюков Петр Михайлович  
Контактная информация:  
Адрес: 150000, Ярославль, ул. Революционная, д.5.  
Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего образования  
«Ярославский государственный медицинский  
университет» Министерства здравоохранения  
Российской Федерации  
Раб. тел.: +7(910) 972-88-61  
E-mail: mpm@ysmu.ru