

## **ОТЗЫВ**

**официального оппонента на диссертацию**

**Филипович Татьяны Александровны**

**«Механизмы взаимодействия центральных и периферических хеморецепторов в регуляции дыхания при моделировании апноэ», представленную на соискание ученой степени**

**кандидата биологических наук по специальности**

**14.03.03. – «патологическая физиология»**

**Соответствие диссертации специальности и отрасли науки, по которым она представляется к защите, со ссылкой на область исследования паспорта соответствующей специальности, утвержденного ВАК**

В диссертационном исследовании Татьяны Александровны Филипович «Механизмы взаимодействия центральных и периферических хеморецепторов в регуляции дыхания при моделировании апноэ» проведен экспериментальный анализ одной из нерешенных проблем патологической физиологии, заключающейся в поиске механизмов фатальной остановки дыхания после блокады функций медуллярных хеморецепторов, которые расположены на вентральной поверхности продолговатого мозга вне витальных центров и реагируют на гиперкапнический стимул, что по содержанию, предмету и объекту исследования, используемым методам, базовому образованию соискателя соответствует отрасли науки, по которой присуждается ученая степень – биологические науки и формуле специальности – патологическая физиология согласно Паспорту специальности 14.03.03 – патологическая физиология, утвержденного Постановлением Президиума ВАК Республики Беларусь № 116 от 23 апреля 2018 г.

### **Актуальность темы диссертации**

Т.А. Филипович в своей диссертационной работе взаимоотношения центральных и периферических хеморецепторов в норме, а также в условиях гиперкапнии, гипероксии, гипоксии. До настоящего времени исследователи из разных стран мира пытаются найти ответы на эти вопросы. В поисковой системе PubMed на запрос «central chemoreceptors» обнаруживается свыше трех тысяч научных статей, а на сочетание «central chemoreceptors, apnea» около 400 публикаций. Однако проблема развития апноэ при функциональной недостаточности центральных хеморецепторов остается гипотетической до сих пор. Установленная около 50 лет назад в экспериментах на наркотизированных лабораторных животных закономерность о мгновенной остановке дыхания после разрушения или блокады лидокаином миниатюрного участка вентрального отдела продолговатого мозга в местах выхода подъязычных нервов так и остается неразгаданной. До сих пор непонятно, почему блокада медуллярных (центральных) хеморецепторов, реагирующих на прирост  $\text{CO}_2$  во внутренней среде организма и расположенных вне нейронных сетей дыхательного и сосудодвигательного центров, мгновенно становится смертельной для экспериментальных животных. Актуальной

остается проблема разработки элементарных принципов терапии пациентов с симптомами центрального апноэ во сне. Эта группа пациентов принципиально отличается от пациентов с симптомами обструктивного апноэ во сне, поскольку для нивелирования обструктивных процессов в воздухоносных путях разработаны разнообразные консервативные и хирургические методы лечения. Для пациентов с центральными формами апноэ во сне существуют только профилактические методы, направленные на поддержание легочной вентиляции во сне с помощью довольно дорогостоящих устройств.

Таким образом, проблема патофизиологии центральных хеморецепторов реально существует и требует досконального изучения. Особенно в аспекте взаимодействия центральных и периферических хеморецепторов. Центральные хеморецепторы реагируют на гиперкапнический стимул, и при блокаде этих хеморецепторов нарушается генерация дыхательного ритма и развивается смертельное апноэ. Периферические хеморецепторы реагируют на гипоксический и также на гиперкапнический стимулы (Корней Жан Франсуа Хейманс в 1938 году получил нобелевскую премию), но полная блокада этих рецепторов не сопровождается апноэ. Невьясненный до сих пор парадокс.

Изложенная выше информация, вероятно, явилась стимулом для Филипович Т.А. изучить в опытах на наркотизированных крысах линии Вистар структурные особенности центральных хеморецепторов и патофизиологические механизмы остановки дыхания при блокаде медуллярных хеморецепторов, расположенных на вентральной поверхности продолговатого мозга и не входящих структурно в нейронные сети дыхательного центра. С помощью морфологических методов диссертант выявил новые особенности медуллярных хеморецепторов. Свободные нервные окончания в этой области мозга вплотную контактируют с микрососудами и/или глиальными клетками, расположенными около капилляров и артериол. Вполне правомочна гипотеза диссертанта о том, что такое распределение свободных нервных окончаний в зоне центральных хеморецепторов обеспечивает быстрое реагирование на прирост молекул углекислого газа в ткани мозга и передачу этой информации в нейронные сети витальных центров. Диссертантом установлено, что в условиях гипероксии (для блокады функций рецепторов каротидного тельца) блокада лидокаином функций медуллярных хеморецепторов сопровождается фатальной остановкой дыхания. Смертельная остановка дыхания (если не подключить аппарат искусственного дыхания) происходит и без предварительной блокады функций рецепторов каротидного тельца. Важно, что выключение функций каротидного тельца, рецепторы которого, в основном обеспечивают системные реакции на гипоксический стимул, не сопровождается остановкой дыхания. А блокада функций медуллярных хеморецепторов, реагирующих на прирост углекислого газа в живом организме, становится фатальной для экспериментального животного.

Диссертант установила, что в области медуллярных хеморецепторов имеется две зоны. Аппликация анестетика на каудальную зону сопровождается повышением чувствительности хеморецепторов ростральных участков к  $\text{CO}_2$ . Следовательно, нейроны каудальных участков медуллярных хеморецепторов ослабляют активность хемочувствительных клеток ростральных участков центральных хеморецепторов.

Важным аспектом диссертации являются разделы, посвященные уточнению структурных и ультраструктурных особенностей медуллярных хеморецепторов. Филипович Т.А. обнаружила в области центральной хеморецепции высокую плотность свободных нервных окончаний вблизи микрососудов. С функциональной точки зрения такая особенность позволяет предположить вероятность рецепции  $\text{CO}_2$  свободными нервными окончаниями не только в ткани мозга за счет естественных метаболических процессов, но и непосредственно около стенки артериальных и венозных микрососудов, в которых эритроциты переносят как  $\text{CO}_2$ , так и  $\text{O}_2$ . Научный интерес представляют также данные о близком расположении глиальных клеток около микрососудов. Такая структурная особенность позволяет предположить, что изменение содержания как  $\text{CO}_2$ , так и  $\text{O}_2$  в ткани мозга в области медуллярных хеморецепторов быстро отразится на функциональном состоянии макроглии, а это, следовательно, скажется и на функциях хеморецепторных клеток.

В итоге, актуальность научной работы Т.А. Филипович подчеркивается тем, что в опытах на лабораторных животных установлены новые структурные и функциональные особенности центральных хеморецепторов, определяющих реакции нейронных сетей дыхательного центра на гиперкапнический стимул. Выявленные в экспериментах закономерности были обсуждены с клиницистами в РНПЦ оториноларингологии МЗ РБ. В итоге, был адаптирован метод «возвратного дыхания» для обнаружения у пациентов с жалобами на храп при засыпании чувствительности медуллярных хеморецепторов к гиперкапническому стимулу. Такая тактика позволила разработать и внедрить клиницистам технологии, которые после утверждения МЗ РБ стали основой для предотвращения фатальных остановок дыхания во сне у таких пациентов. Т.А. Филипович стала соавтором статей с клиницистами по этой тематике. Следовательно, фундаментальные исследования диссертанта актуальны не только в теоретическом аспекте, но и в прикладном.

### **Степень новизны результатов, полученных в диссертации и научных положений, выносимых на защиту**

Полученные в результате экспериментальных исследований данные, составившие основу диссертационной работы Т.А. Филипович, обладают несомненной новизной. Этот вывод подтверждается не только фактическими результатами и их обсуждением, приведенными в диссертации, но и достаточным перечнем публикаций по теме диссертационного исследования в отечественных и зарубежных научных журналах.

Таким образом, степень новизны научных положений, выносимых на защиту, обусловлена скрупулезным анализом в обзоре литературных сведений диссертационной работы научных публикаций по тематике диссертации. Изучение тематических научных статей позволило выявить слабоизученные аспекты центральной хеморецепции и сформулировать цели и задачи диссертации. Диссертант обратил внимание не только на взаимоотношения медуллярных хеморецепторов с дыхательным центром, но с нейронными сетями сосудодвигательного центра. В итоге, Филипович Т.А. сумела впервые установить, что после блокады анестетиком медуллярных хеморецепторов мгновенно изменяется кривая вариабельности сердечного ритма и лишь затем наступает апноэ.

В серии гистологических и электронно-микроскопических исследований установлены особенности участков центральной хеморецепции вентрального отдела ствола головного мозга, что сопоставлено с результатами физиологических исследований и отражено в положениях, выносимых на защиту:

– структурные и ультраструктурные особенности нейроглиальных и нейрососудистых взаимоотношений в вентральных отделах продолговатого мозга крыс линии Вистар являются основой для устойчивого контроля и поддержания оптимального дыхательного гомеостаза на уровне ствола головного мозга и всего организма;

– нейронные сети вентральных отделов продолговатого мозга выполняют ключевую роль в интеграции сигналов от периферических и центральных хеморецепторов в норме и при патологии. Процесс интеграции является основой для стабилизации центральной инспираторной активности и постоянного взаимодействия сердечно-сосудистой и респираторной систем с целью поддержания дыхательного гомеостаза и обеспечения эффективного функционирования и приспособления организма к изменяющимся условиям внешней и внутренней среды;

– функциональная активность медуллярных хеморецепторов, реагирующих на изменения в вентральных отделах продолговатого мозга водородных ионов и молекул углекислого газа, а также на сдвиг функционального состояния окислительно-восстановительных процессов в головном мозге, является ключевым условием для стабильной генерации центральной инспираторной активности, регуляции деятельности сердца и поддержания дыхательного гомеостаза в организме.

### **Обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Филипович Т.А. на основании многочисленных серий электрофизиологических опытов, а также морфологических, биохимических методов исследований и статистической обработки полученных результатов современными методами статистического анализа сопоставила полученные данные с литературными сведениями по теме диссертационной работы. Такой подход позволил автору обосновать целесообразность применения в работе гистологических, электронно-микроскопических, электрофизиологических, биохимических, статистических методов исследования. Достоверность выводов диссертационной работы базируется на достаточном объеме проведенных опытов на лабораторных крысах линии Вистар (95 острых опытов на белых крысах-самцах). Диссертант провел объективный анализ отечественной и зарубежной научной литературы по выбранной теме – 242 источника.

Научные положения и выводы, выносимые на защиту, соответствуют содержанию диссертации, обоснованы и доказательно аргументированы.

**Научная, практическая, экономическая и социальная значимость результатов диссертации с указанием рекомендаций по их использованию**

Диссертационная работа Т.А. Филипович включает принципиально новые научные положения, имеющие значение для развития как фундаментальных, так и прикладных исследований в области патологической физиологии дыхания и деятельности сердца. Полученные диссертантом экспериментальные данные объясняют закономерности формирования и адаптации к изменяющимся условиям дыхательного ритма и сердечной деятельности у наркотизированных лабораторных крыс с учетом функциональной активности центральных хеморецепторов, что актуально для отоларингологов, невропатологов, нейрохирургов в процессе клинического обследования пациентов с жалобами на храп и внезапную остановку дыхания во время сна, которая порой становится фатальной.

Экспериментальные результаты диссертационной работы Т.А. Филипович включены в разделы ЭУМК 04 Теоретический раздел, обязательная часть и использованы в учебной дисциплине «Физиология»; для студентов/ слушателей специальности(ей) 1-88 01 01 «Физическая культура (по направлениям)» и другие Учреждения образования «Белорусский государственный университет физической культуры». Рекомендация к внедрению: протокол заседания кафедры физиологии и биохимии от 15 декабря 2021 г. № 6.

### **Опубликованность результатов диссертации в научной печати**

Результаты диссертационной работы Т.А. Филипович опубликованы в 25 печатных научных изданиях: 16 статей в научных журналах (4 – единолично), соответствующих пункту 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий, 1 статья в материалах конференций, 8 тезисов докладов. Общее количество авторских листов публикаций по теме диссертации – 8,21, из них опубликовано соискателем лично – 1,53.

Полный список публикаций приведен в диссертации и автореферате.

Печатные научные работы полностью отражают содержание диссертации и основные результаты, полученные диссертантом.

### **Соответствие оформления диссертации требованиям ВАК Республики Беларусь**

Диссертационная работа Т.А. Филипович оформлена в соответствии с требованиями «Положения о присуждении ученых степеней и присвоения ученых званий» ВАК Республики Беларусь. Диссертация изложена на 122 страницах и включает: введение, общую характеристику работы, аналитический обзор литературы, описание материалов и методов исследования, изложение результатов собственных исследований (4 главы), анализ и обсуждение полученных данных, заключение, библиографический список, включающий 242 источников литературы (34 – на русском, 208 – на английском языке), список публикаций соискателя – 25 работ. Работа иллюстрирована 32 рисунками.

Текст диссертации логичен и обоснованно структурирован. Все разделы диссертации взаимосвязаны. Все отраженные в диссертации результаты присутствуют в опубликованных работах, полученные выводы доказаны на основе

общепринятой научной методологии и объективно оценены в процессе сопоставления с данными научной литературы.

### **Предложения, замечания, вопросы по диссертации (при их наличии)**

В результате анализа диссертации возникли следующие вопросы:

1. Как можно объяснить блокаду генерации дыхательного ритма при воздействии анестетика на область центральных хеморецепторов, которая не является структурным элементом дыхательного центра?
2. Есть ли в научной литературе данные о конкретных путях передачи сигналов от медуллярных хеморецепторов к дыхательному центру?
3. Как можно объяснить феномен остановки генерации дыхательного ритма при блокаде медуллярных рецепторов, реагирующих на гиперкапнический стимул, и сохранение генерации дыхательного ритма в опытах с блокадой хеморецепторов каротидного тельца?
4. Какие структуры головного мозга автор относит к стволу мозга?
5. В главе 4 (п.4.1) автор относит к стволу головного мозга мост и продолговатый мозг. А какие структуры ствола относятся к краниальным отделам?
6. Почему автор диссертации в своей работе не использовала иммуногистохимические методы исследования? Они более наглядны и доказательны, по сравнению с классическими гистологическими методами - гематоксилин-эозином или окраской по Нисслию, тем более, что в настоящее время существует широкий выбор антител, в том числе и для решения поставленных диссертантом цели и задач исследования.

При изучении диссертационной работы, автореферата и опубликованных работ возникли следующие замечания.

1. На рисунках 5.1 – 5.4 отсутствуют цифровые, буквенные или стрелочные обозначения структур (нейроны, кровеносные сосуды и т.д.). Описание и закономерности изменений структурных компонентов нервной ткани на этих рисунках в условиях нормоксии и гиперкапнической гипероксии, которое приводит автор в главе 5, разделе 5.1 не в полной мере соответствуют представленному на рисунках увеличению  $\times 400$  гистологических препаратов продолговатого мозга. Слишком мелкие и нечеткие структуры на рисунках, для детального и точного их описания необходимо использовать большее увеличение микроскопа.
2. В разделе «Заключение» п.1 содержит обобщенную и известную информацию и не обладает научной новизной.

В диссертационном исследовании Т.А. Филипович встречаются стилистические и технические ошибки, погрешности в использовании анатомической терминологии: стр. 8, в разделе «Научная новизна» вероятно автор в описании имела ввиду «ключевую значимость хеморецепторов» не вентральной поверхности продолговатого мозга, а вентральных отделов продолговатого мозга; стр. 75 в подписи к рис. 5.7 наружная сонная артерия обозначена автором как «внешняя сонная артерия» (ВСА); на этом же рисунке присутствует обозначение НВ – нервное волокно, но самого нервного волокна не видно, да и окраска

гистологического препарата гематоксилином –эозином не предусмотрена для выявления нервных волокон; на стр. 77 в подписи к рис. 5.9 отсутствует расшифровка обозначения «К»; стр. 83, на рис. 5.14 А кровеносный сосуд обозначен как «К», а на рис. 5.14 Б – как «КС».

Изложенные замечания не затрагивают научную и прикладную значимость полученных результатов, а также обстоятельно сформулированных на их основе выводов диссертации.

### **Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует**

Рецензируемая диссертация представляет собой законченный квалификационный труд в области патологической физиологии. Анализ текста диссертации и автореферата, методов исследования, новизна и научно-практическая значимость полученных результатов, а также широкая их апробация на научных конференциях и опубликованность в рецензируемых отечественных и зарубежных журналах, свидетельствует о высокой научной квалификации автора, которая полностью соответствует требованиям, предъявляемым к соискателям ученой степени кандидата биологических наук.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

На основании вышеизложенного можно заключить, что диссертационная работа Филипович Т.А. «Механизмы взаимодействия центральных и периферических хеморецепторов в регуляции дыхания при моделировании апноэ», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.03. – «патологическая физиология», является завершенным научным исследованием, которое содержит новые научно-обоснованные и практические данные о триггерной роли сигналов от медуллярных хеморецепторов, реагирующих на прирост уровня  $CO_2$  и концентрацию водородных ионов в стволе головного мозга, в инициации центральной инспираторной активности и контроле сердечной деятельности. Искомая ученая степень кандидата биологических наук по специальности 14.03.03. – «патологическая физиология» может быть присуждена Филипович Татьяне Александровне за следующие впервые полученные научные результаты:

1. Выявление принципиально новых структурных и ультраструктурных особенностей нейроглиальных и нейрососудистых взаимоотношений в вентральных отделах продолговатого мозга крыс линии Вистар, которые предположительно являются основой для реализации рецепторной функции медуллярных хеморецепторов.

2. Экспериментальное доказательство развития фатального апноэ у наркотизированных лабораторных крыс после аппликации анестетика на область медуллярных хеморецепторов.

3. Экспериментальное доказательство опережающего реагирования  
вариабельности сердечного ритма и последующего развития апноэ после блокады  
анестетиком медуллярных хеморецепторов.

ОФИЦИАЛЬНЫЙ ОППОНЕНТ:

Проректор по международным связям  
доктор медицинских наук, профессор  
Учреждения образования  
«Белорусский государственный  
медицинский университет»



В.В. Руденок