

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Пасечникова Виктора Дмитриевича на диссертацию Золотарева Василия Авенировича «Нитрергические механизмы гастропротекции в условиях ирритации слизистой оболочки желудка», представленную к защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.5 – физиология человека и животных

Диссертационная работа В.А. Золотарева является наиболее крупным отечественным фундаментальным исследованием механизмов регуляции барьерной функции желудка последнего десятилетия.

Актуальность работы

Актуальность диссертации определяется ее задачами, направленными на раскрытие цитопротекторных механизмов, которые обеспечивают нормальное функционирование слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта (СО ЖКТ). Мультидисциплинарные исследования последних десятилетий достигли прогресса в характеристике молекулярно-клеточных процессов цитопротекции, но оставили ряд нерешенных вопросов. Попытки обобщить результаты этих исследований выявили недостаток знаний о координации предэпителиальной и субэпителиальной линии защиты СОЖ и о ведущем механизме защиты при остром и хроническом повреждении.

Работа В.А. Золотарева вносит значительный вклад в понимание эпителиальных и субэпителиальных механизмов регуляции секреции в слой пристеночной слизи ионов бикарбоната, важнейшего фактора защиты, который в норме обеспечивает само существование СОЖ в агрессивной кислой среде. Можно утверждать, что желудочная продукция HCO_3^- до настоящего времени была изучена недостаточно полно из-за методических затруднений при измерении концентрации HCO_3^- *in vivo*. Преодолев методические трудности, автор получил новые фундаментальные сведения о взаимозависимости секреции бикарбонатов, эндогенной кислотности и скорости желудочного кровотока. Практическая актуальность такого рода исследований связана с выявлением возможных последствий неконтролируемого приема ингибиторов протонного насоса (ИПП).

Актуальной с теоретической и практической точки зрения является представленная в работе детальная характеристика нитрергических

процессов, управляющих секрецией и кровообращением в желудке при химическом раздражении СОЖ. Поэтому результаты исследования, несомненно, могут быть полезны как фундаментальное обоснование для создания эффективных и безопасных лекарственных средств с цитопротективным эффектом на слизистую ЖКТ, но не связанных с кислотной супрессией. Это относится, например, к дальнейшей разработке нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП), высвобождающих NO из СОЖ, среди которых известен амтолметин гуацил. Исследование В.А. Золотарева теоретически обосновывает преимущества этих препаратов перед НПВП, конъюгированными с донаторами NO-группы, а именно способность стимулировать секрецию желудочно-кишечных пептидов, в том числе кальцитонин-ген связанного пептида, и активацию NOS с последующим высвобождением NO, защищающего стенку желудка от разрушения.

Цель диссертационной работы состояла в комплексном изучении роли нитрергической системы в регуляции гастропротективных реакций, возникающих в ответ на слабую ирритацию слизистой оболочки желудка.

Для достижения этой цели были решены следующие экспериментальные задачи. Была изучена реакция защитного бикарбонатного барьера на поверхности СОЖ и органного кровотока на внутрижелудочную инфузию кислого гипертонического раствора. Установлено, как на состояние бикарбонатного барьера влияет собственная желудочная продукция кислоты. Выяснено значение нитрергической регуляции для формирования бикарбонатного барьера, а также ее влияние на экзокринную секрецию и органный кровоток в условиях химического раздражения СОЖ. Определена специфическая роль нейрональной (nNOS) и эндотелиальной (eNOS) изоформ синтазы оксида азота в этих реакциях при разном уровне секреции кислоты в желудке. Раскрыто участие капсаицин-чувствительных афферентных нервных окончаний в управлении активностью nNOS и eNOS. Установлена степень взаимодействия нитрергической и простагландиновой систем в желудке при ирритации слизистого эпителия.

Научная новизна исследования. Проведенное исследование характеризуется новизной как методических подходов, так и полученных экспериментальных данных. Для анализа нейтрализующей функции щелочного барьера (бикарбонатов) автор впервые использовал количественную оценку продукции бикарбонатов в кислой среде. С этой целью им был разработан и верифицирован метод регистрации pH и PCO₂ в перфузионном растворе,

омывающем полость желудка лабораторных животных. Это было необходимым условием для выяснения значения кислотной продукции в поддержании бикарбонатного барьера на поверхности желудочного эпителия, а также позволило оценить влияние ИПП.

Центральным и приоритетным результатом работы было описание разнонаправленного действия нейрональной и эндотелиальной изоформ синтазы оксида азота, активированных кислым гипертоническим раствором, на секрецию бикарбонатов и кровотоков в стенке желудка. Автором приведены доказательства вовлеченности nNOS в усиление продукции бикарбонатов. В то же время оксид азота, синтезированный eNOS, не влиял на эти процессы, но регулировал доступность бикарбонатов из кровотока.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты диссертационной работы являются существенным вкладом в развитие теории гастропротекции. Основное значение работы заключается в определении селективной роли изоформ конститутивной синтазы оксида в усилении простагландиновых и холинергических воздействий на секрецию бикарбонатов и желудочный кровоток в условиях слабой ирритации СОЖ. Автор также описал различные механизмы защиты СОЖ в зависимости от величины органного кровотока, чем уточнил известную концепцию «тканевого барьера разведения». Принципиальное значение имеет экспериментальное доказательство тканевого механизма, связывающего секрецию кислоты и транспорт бикарбонатов на поверхность эпителия, для поведения которого техника измерения концентрации бикарбонатов в кислом желудочном перфузате была адаптирована к условиям физиологического эксперимента. Последнее само по себе имеет научно-практическое значение.

С точки зрения терапии кислотозависимых заболеваний ЖКТ вызывает интерес описанное в диссертации изменение секреции бикарбонатов в желудке под действием ИПП, что, в частности, дополняет знания о влиянии ИПП на усиление НПВП-индуцированных гастропатий. Доказанное избирательное действие nNOS на укрепление щелочного барьера и органной кровотоков можно рассматривать как базу дальнейшего развития особой группы НПВП, высвобождающих NO из слизистой оболочки желудка.

Степень обоснованности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации. Автор выносит на защиту 6 положений и 10 выводов. Обобщения, лежащие в их основе, сделаны корректно и логично вытекают из результатов комплексных физиологических экспериментов.

Положение 1, вывод 1. Физиологический уровень кислотности и осмотического давления близкий к показателям желудочного химуса при пищеварении является достаточным стимулом для запуска реакций гастропротекции, включая усиление бикарбонатного барьера на поверхности слизистой оболочки желудка и увеличение органного кровотока. Положение подкрепляется результатами экспериментов на бодрствующих и наркотизированных животных, которые представлены в разделах 3.1.1, 3.1.2 главы Результаты.

Положение 2, выводы 2,6,7,10 следует считать центральным обобщением работы. Нитрергическая система желудка в условиях слабого химического раздражения слизистой оболочки функционирует как основной модулятор простагландиновых и холинергических вагусных влияний на состояние защитного бикарбонатного барьера, а также на кровообращение в подслизистом слое. Положение основывается на материале разделов 3.2.2-3.2.4, 3.4.1-3.4.3, 3.6.4.

Положение 3, выводы 2,3,7,9 раскрывают роль отдельных изоформ конститутивной синтазы оксида азота, которые производят разнонаправленное действие на транспорт HCO_3^- из подслизистого слоя на поверхность желудочного эпителия. Нейрональная синтаза усиливает работу котранспортеров $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ (NBCe-1,-2) и секрецию HCO_3^- , вызванную раздражением СОЖ, а также потенцирует холинергические вагусные воздействия на секрецию HCO_3^- . Избирательная стимуляция эндотелиальной синтазы приводит к ослаблению продукции HCO_3^- . Эти заключения сделаны путем сравнения эффектов неселективного блокатора обеих синтаз, L-NNA, и селективного блокатора pNOS, 7-нитроиндазола. В целом положение 3 подтверждается в разделах 3.2, 3.6.4.

Положение 4, вывод 5 раскрывает физиологические процессы, участвуя в которых eNOS ограничивает трансэпителиальный перенос HCO_3^- в условиях сохраненной фоновой секреции H^+ , либо повышенной концентрации HCO_3^- в кровеносном русле. Подавление секреции кислоты приводило к сокращению эффекта eNOS. С другой стороны, эффект pNOS не зависел от эндогенной кислотности и концентрации HCO_3^- в кровеносном русле (разделы 3.3, 3.4.1, 3.4.2).

Положение 5, выводы 6, 7 утверждают, что главным посредником в действии оксида азота на секрецию HCO_3^- является циклооксигеназа (ЦОГ) и синтез простагландинов. Активирующий эффект pNOS полностью реализуется через взаимодействие растворимой гуанилатциклазы и цГМФ с

ЦОГ. Блокада ЦОГ усиливает действие eNOS. Потенцирующее влияние pNOS/NO на вагусное холинергическое усиление продукции HCO_3^- и H^+ в условиях ирритации слизистой оболочки не связано с синтезом простагландинов (разделы) 3.2.4, 3.2.5, 3.4.2, 3.4.3, 3.6.4.

Положение 6, вывод 8, подтверждает, что нитрергическое усиление секреции HCO_3^- в ответ на ирритацию СОЖ зависит от локальной реакции капсаицин-чувствительных первичных афферентных нервных окончаний. В то же время действие протонов на рецептор переменного потенциала ванилоидный 1-го типа, локализованный в капсаицин-чувствительных афферентных нервных окончаниях, оказалось недостаточным стимулом для запуска секреции HCO_3^- . Эти данные характеризуют сенсорное звено реакций СОЖ, посредником которых является оксид азота (раздел 3.5).

Достоверность полученных результатов. Качество представленных экспериментальных данных и достоверность сделанных выводов не вызывают сомнения. Примененные автором оригинальные методологические подходы и протоколы исследований основываются на собственных результатах и сведениях из литературы, а также верифицированы в предварительных сериях экспериментов. Обобщения сделаны с использованием адекватных статистических сравнений выборок данных необходимой величины. Исчерпывающие результаты статистических сравнений представлены во всей полноте в таблицах Приложения 2.

- Положения, выносимые на защиту, основываются на самостоятельно полученных автором результатах и логически доказываются с привлечением сведений из литературы. Выводы соответствуют поставленным задачам и полностью соответствуют положениям диссертации.

Структура диссертации, завершенность работы и оформление диссертации и автореферата. Диссертация написана по традиционному плану и включает: введение, обзор литературы, методы, результаты исследования и обсуждение результатов, в которое входят заключение и выводы. Работа представлена на 325 страницах, содержит 45 рисунков, 1 таблицу и 2 приложения. В списке литературы даны ссылки на 665 источников.

Работа описывает полностью завершенные серии экспериментов. Необходимо заметить, что традиционный план делает ее сложной для чтения, поскольку заставляет несколько раз возвращаться от обсуждения к результатам. Вместе с тем, выбрав такой способ изложения, автор добивается максимальной доказательности выдвинутых положений. Примером служит анализ вклада изоформ NOS в регуляцию гастропротективных процессов.

Если в главе Результаты рассматривается исключительно действие блокаторов L-NNA и 7-нитроиндазола, то в главе Обсуждение сопоставляются эффекты избирательной и неизбирательной блокады самих ферментов, на основе чего автор описывает функциональную роль изоформ фермента, eNOS и nNOS. Положительной оценки заслуживают вводные и итоговые замечания, сопровождающие разделы главы Результаты, с помощью которых автор выстраивает четкую логику изложения и подчеркивает взаимосвязь серий экспериментов.

Работа написана в хорошем научно-литературном стиле. Положения и логические переходы четко сформулированы. Диссертант представил исчерпывающий иллюстративный материал. Ссылки на литературные источники корректны.

Автореферат соответствует требованиям ВАК, содержит 45 страниц, 1 иллюстрацию и полностью отражает основные результаты, положения и выводы диссертации.

Апробация диссертации, полнота изложения материала в опубликованных работах. Материалы диссертации полностью представлены в открытой печати. Положения диссертации и результаты опубликованы в 16 статьях в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, и 30 материалах конференций.

Замечания и вопросы. Существенных замечаний, влияющих на общую положительную оценку диссертационной работы, не имею. Все же на дискуссию хотел бы внести следующий вопрос.

Заслуживает одобрения качественная хирургическая техника, продемонстрированная диссертантом. Ему удалось стабильно проводить операцию по выведению желудочной фистулы на брюшную поверхность и затем выхаживать экспериментальных животных. Имея бодрствующих животных с желудком чувствительным к химическим воздействиям на слизистую оболочку, автор, тем не менее, решал с их помощью ограниченное число задач. В чем причина того, что большинство экспериментальных серий проведено не на бодрствующих, а на наркотизированных крысах?

Заключение

Диссертационная работа В.А. Золотарева является завершенным самостоятельным научно-квалификационным исследованием. Содержание диссертации полностью соответствует цели и задачам работы. Автореферат полностью отражает содержание диссертации. Положения работы,

непротиворечиво дополняя и взаимно развивая друг друга, создают целостное представление о роли нитрергической системы в условиях, моделирующих химическое раздражение СОЖ при пищеварении, подтверждая актуальность, новизну, теоретическую и практическую значимость исследования.

На основании вышеизложенного считаю, что диссертационная работа «Нитрергические механизмы гастропротекции в условиях ирритации слизистой оболочки желудка» соответствует требованиям к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, установленным в п. 9-14 «Положения о присуждении научных степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 (в редакции от 01.10.2018), а ее автор, Золотарев Василий Авенирович, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.5 – физиология человека и животных.

Заведующий кафедрой терапии с курсом диетологии
Федерального государственного бюджетного
учреждения высшего образования Ставропольский
государственный медицинский университет МЗ
Российской Федерации
доктор медицинских наук, профессор
Пасечников Виктор Дмитриевич

Адрес:

355017, Россия, г. Ставрополь, пр. Мира д. 310;
Ставропольский государственный медицинский
университет МЗ Российской Федерации

E-mail: passetchnikov@mail.ru.

Тел.: +7(962)-447-7513



Копия
Часть 1: отдела кадров
ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России
Лаврова О.В. [Signature]
07 06 2022 г.