

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА
на диссертационную работу Литвиненко Елены Сергеевны «ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ И
МОДЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВКЛАДА ЭНДОТЕЛИЙ-ОПОСРЕДОВАННОГО
МЕХАНИЗМА АВТОРЕГУЛЯЦИИ СОСУДИСТОГО ТОНУСА В ДИНАМИКУ МАЛЫХ
МИКРОЦИРКУЛЯТОРНЫХ СЕТЕЙ», представленную на соискание
ученой степени кандидата физико-математических наук
по специальности 03.01.02 – Биофизика

Проблема механизмов регуляции сокращения сосудистой стенки представляет фундаментальный интерес для понимания законов функционирования кровеносной системы, а также имеет большое прикладное значение в связи с вопросами профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

В диссертации Е.С. Литвиненко основное внимание уделено изучению роли клеток эндотелия в регуляции динамики кровотока, которые, наряду с клетками гладкой мускулатуры, обеспечивают функционирование кровеносной системы, а также механизмам авторегуляции сосудистого тонуса, которые работают в условиях взаимного влияния сосудов в пределах микроциркуляторной сети. Разработан новый эффективный метод лазерной активации сосудодвигательных реакций интактной микроциркуляторной сети и проведено экспериментальное исследование *in situ* характеристик индуцированных сосудодвигательных реакций кровеносных и лимфатических сосудов. Разработана математическая модель функционального сегмента кровеносного сосуда для описания динамики кровотока с учетом влияния на кровоток нелинейной и переменной во времени упругости сосудистой стенки. На модели в вычислительных экспериментах воспроизведены паттерны перераспределения сетевого кровотока в результате действия эндотелий-опосредованных механизмов регуляции сосудистой стенки.

Диссертация Е.С. Литвиненко имеет объем 134 стр., включает Введение, три главы, в которых описаны методы и результаты исследования, Заключение и список литературы - 223 названия. Во Введение представлен литературный обзор и необходимые для диссертации разделы: научная значимость, основные результаты, перечень публикаций и проч.

Литературный обзор Е.С. Литвиненко содержит современные сведения об эндотелий-опосредованной регуляции сосудистого тонуса и механизмах регуляции пространственно-распространенной вазореактивности. Приводятся современные сведения о сосудистой сети куриного эмбриона и преимуществах его использования в качестве биомодели,

рассматриваются оптические методы анализа кровотока и механизмы воздействия на микроциркуляторную сеть лазерного излучения, а также дается краткий обзор математических методов моделирования микроциркуляции крови.

В главе 1 описана методика работы с сосудистой сетью хориоаллантоисной оболочки (ХАО) куриного эмбриона - биологической моделью полнофункциональной сети микроциркуляции. Автором разработана специализированная система прижизненной микроскопии, которая дает возможность локализованного неразрушающего лазерного воздействия на выбранный фрагмент кровеносного или лимфатического сосуда, одновременной регистрации сетевого кровотока и его количественного анализа методом анемометрии по изображениям частиц. На основе диодных лазеров с длиной волны излучения 532 нм и 405 нм собрана установка, которая позволила сфокусировать лазерный пучок до 10-15 мкм в диаметре, что по размерам соотносится с размерами эритроцитов куриных эмбрионов и с размерами клеток сосудистой стенки. Для анализа полученных изображений и разделения временных масштабов пульсаций скорости кровотока использованы программы стабилизации изображений и методы вейвлет-анализа. Для модельного описания изучаемых процессов автором разработан алгоритм, который позволяет создавать рандомизованные имитационные пространственные структуры васкулярного дерева, получено свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ «VascuNet».

Во второй главе диссертации рассмотрены сосудистые реакции интактной микроциркуляторной сети в ответ на локализованную стимуляцию. В разделе 2.1. изучается лазер-индуцированная вазореактивность одиночного сосуда куриного эмбриона. Показано, что лазерное воздействие всегда приводит к реакции сосуда, причем характер эффекта зависит от длины волны лазерного излучения: на длине волны 405 нм в 92% случаев наблюдается вазоконстрикция, а на длине волны 532 нм в 93% случаев – дилатация исследуемого сосуда. Локальный ответ на лазерное излучение во многих случаях сопровождается распространяющейся вазоконстрикцией, охватывающей значительный (> 500 мкм) участок сосуда по/против направления кровотока, и может распространяться через точки бифуркации сосуда. Изучены изменения величины кровотока при лазерном воздействии, в том числе при пульсациях, характерных для кровотока в сосудах куриного эмбриона.

Проведена серия экспериментов по лазерному воздействию на лимфатические сосуды брыжейки крысы. Наличие эффекта подтвердило гипотезу о том, что лазерное излучение действует на клетки стенки сосуда (а не только на форменные элементы крови, что могло бы иметь место в случае облучения кровеносных сосудов). Эффект проявляется в усилении

сократительной активности лимфатического сосуда (до 6 сокращений лимфангиона подряд) с его возвращением к нормальному функционированию при прекращении воздействия. Индуцированное сокращение распространялось в обе стороны от места воздействия (а не от места расположения пейсмейкера лимфангиона), что поддерживает гипотезу о запуске лазерным воздействием механизма деполяризации гладкомышечных клеток лимфососуда.

Третья глава посвящена исследованию процессов авторегуляции сосудистого тонуса с помощью математической модели. Для одиночного сосуда сформулирована система из 4-х дифференциальных уравнений, переменными которых являются объем (давление) сегмента сосуда, его радиус, степень активации эндотелия и степень активации гладкой мускулатуры.

Система сложная, нелинейная, содержит большое число параметров. Качественное исследование и построение фазовых портретов системы в предположении постоянного давления в широком диапазоне реалистических значений параметров показывает, что ее стационарным решением является устойчивый узел, это гарантирует адекватность поведения характеристик сегмента в составе сети. В работе выполнена параметризация модели с использованием литературных данных и величин, полученных в собственных экспериментах автора. Полученный опорный набор параметров использовали для вычислительных экспериментов по симуляции реакции одиночного сегмента на тестовый сигнал, в качестве которого использовали мгновенный скачок и медленный подъем входного давления. При моделировании комбинированного отклика на трансмуральное давление и линейную скорость кровотока изменение радиуса сосуда определялось на коротких временах миогенным (уменьшение радиуса сосуда), а более длительных временах – эндотелиальным механизмом (увеличение радиуса).

Имитационное моделирование сильной пульсации кровотока, подобной наблюдаемой экспериментально на курином эмбрионе, показало зависимость характера реакции от силы пульсаций: увеличение диаметра сосуда при больших пульсациях кровотока и уменьшение диаметра при малых. Этот эффект объясняется тем, что клетки эндотелия реагирует на величину напряжения сдвига, которая определяется величиной линейной скорости потока.

Были построены модели перераспределения кровотока на Y-бифуркации сосудов при окклюзии одного из сегментов, а также перестройки состояния микроциркуляторной сети, состоящей из 7 артериальных и 7 венозных сегментов, в ответ на изменение состояния (окклюзию) одного из входящих в нее сосудов, и изменение вклада эндотелиальной регуляции. Автор приходит к нетривиальному выводу о разбалансирующем действии эндотелиального механизма, что выражалось в усилении различных состояний и режимов исследуемых 20 вариантов сети по мере увеличения вклада эндотелиальной регуляции.

В целом работа представляет собой пример комплексного: экспериментального и теоретического изучения сложной системы, для которой механизмы взаимодействия ее компонентов недостаточно точно установлены, а величины параметров могут быть оценены очень приблизительно, что характерно для биологических систем. Именно в изучении таких сложных систем комплексный подход системной биологии может быть особенно эффективным, параллельное моделирование изучаемых экспериментально процессов помогает прояснить механизмы, лежащие в основе функционирования системы, и проверить имеющиеся гипотезы.

Выполнен очень большой объем работы, автор демонстрирует глубокие знания предмета исследования и высокую квалификацию в области экспериментального исследования и математического моделирования. Работа имеет несомненное практическое значение.

Следует сделать некоторые критические замечания.

1. В диссертации Общие сведения о работе помещены после литературного обзора в конце раздела Введение. Такая нетрадиционная структура не представляется удачной, она затрудняет чтение работы. Общие сведения о работе лучше выносить вперед. В то же время, Литературный обзор является естественной частью диссертации, и не стоит его отрывать от содержательных глав, разделяя Общими сведениями.
2. Остается неясной причина разнонаправленного действия лазера различной длины волны. Физические причины этого явления требуют дальнейших исследований. Гипотеза о разном нагреве объекта при воздействии лазера разной длины волны недостаточно обоснована.
3. В автореферате модель, представляющая существенную часть работы, представлена слишком схематично, не приведены уравнения модели. Это не позволяет при чтении реферата оценить физиологическую обоснованность структуры модели, что имеет важное значение для оценки правомерности сделанных в работе выводов. В тексте диссертации (раздел 3.1) также недостаточное внимание уделено описанию членов уравнений, входящих в структуру модели.
4. При ссылках на многостраничные книги (например, стр. 72, раздел 3.1.3, ссылка [21] на книгу J.Keener, J. Sneyd. "Mathematical Physiology") желательно указывать раздел, откуда взяты соотношения, используемые автором при формулировке модели.
5. Работа не свободна от ошибок в падежах и спряжениях глаголов, связанных с компьютерной работой над текстом.

Указанные выше замечания не умаляют значимости диссертационного исследования.

Диссертация удовлетворяет всем требованиям пунктов 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской

Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 03.01.02 – биофизика (по физико-математическим наукам) и всем имеющимся критериям и хорошо оформлена. Автореферат и публикации соответствуют содержанию диссертации. Соискатель Литвиненко Елена Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 03.01.02 - биофизика

Официальный оппонент
Профессор кафедры биофизики биологического факультета
Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова
Доктор физ.-мат наук

Ризниченко Галина Юрьевна

19.02.2021

Адрес места работы: ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, 119991, Москва, ГСП-2, Ленинские горы, тел.: 8(495) 939-1116, e-mail: riznich46@mail.ru

*Копию беру с.ф.ч.н., проф. Г.Ю.Ризниченко заверяю
Декан биологического ф-та
МГУ имени М.В.Ломоносова,
академик А.П.Кедринский*

