

УТВЕРЖДАЮ



Директор ГНЦ ФГБУ «ВНИИОИ»
аллергологии и иммунологии»

ФМБА России

академик РАН, д.м.н., профессор

М.Р. Хаитов

" 04 " 09 2026 г.

ОТЗЫВ

о научно-практической значимости диссертационной работы
Кутуковой Надежды Александровны «Механизмы холинергической
регуляции рецепторных функций тучных клеток» на соискание ученой
степени кандидата биологических наук по специальностям
«3.3.3. Патологическая физиология» и «3.2.7. Иммунология»

Актуальность темы диссертационной работы

Диссертационная работа Н.А. Кутуковой посвящена актуальной
проблеме – изучению механизмов нейро-иммунных взаимодействий на
уровне тучных клеток. Тучные клетки, являясь полифункциональными
эффекторными клетками соединительной ткани и слизистых оболочек,
играют ключевую роль в инициации и развитии воспалительных реакций за
счет сочетания способности депонировать медиаторы воспаления разного
спектра действия в совокупности с широким репертуаром рецепторных
молекул, обеспечивающих немедленный ответ тучных клеток на самые
разнообразные экзогенные и эндогенные стимулы.

На протяжении последних десятилетий накоплено значительное число морфологических и физиологических данных, свидетельствующих об анатомической и функциональной интеграции тучных клеток с терминалями вегетативной нервной системы, обеспечивающие нейро-иммунные механизмы контроля воспаления. Однако, несмотря на признание важной роли холинергических механизмов в этом процессе, модуляция функций тучных клеток, опосредованная ацетилхолином, остается наименее изученным аспектом нейро-мастоцитарных взаимодействий.

Данные литературы о направленности эффектов ацетилхолина в отношении тучных клеток носят противоречивый характер. Имеются сведения как о стимулирующем, так и об ингибирующем действии этого нейротрансмиттера. Таким образом, тема диссертационной работы Н.А. Кутуковой, направленной на систематическое изучение роли ацетилхолина в регуляции секреторной функции тучных клеток с использованием современных клеточных моделей и методов, является актуальной. Полученные результаты имеют как важное фундаментальное значение, способствуя разрешению противоречивых аспектов патогенеза воспалительных и аллергических заболеваний, так и научно-практическое, открывая перспективы для разработки новых физиологически обоснованных подходов к терапии.

Соответствие темы диссертации указанным специальностям

Диссертация соответствует паспорту научной специальности «3.3.3 Патологическая физиология» (направления исследований №2, №4, №8 и №10), а также научной специальности «3.2.7 Иммунология» (направления исследований №2, №4 и №7).

Основные результаты диссертационной работы

Диссертационная работа Н.А. Кутуковой представляет собой фундаментальное экспериментальное исследование, в котором на современном методическом уровне проведен комплексный анализ дуалистической роли ацетилхолина в регуляции эффекторных функций тучных клеток. Работа выполнена на двух взаимодополняющих клеточных моделях – иммortalизованной линии клеток человека НМС-1 и первичных перитонеальных тучных клетках мыши. Установлено, что действие нейротрансмиттера зависит от исходного функционального состояния клеток. В отношении интактных тучных клеток ацетилхолин выступает как активатор дегрануляции, реализуя свой эффект через мускариновые ацетилхолиновые рецепторы (преимущественно подтипа М3), тогда как в отношении клеток, стимулированных классическими индукторами (веществом 48/80, анти-IgE и агрегированным IgG), он проявляет супрессивное действие, опосредованное $\alpha 7$ -субъединицей никотинового ацетилхолинового рецептора. Впервые детально охарактеризованы дозозависимые и времязависимые закономерности стимулирующего эффекта. Установлено, что при краткосрочной экспозиции (5-15 мин) максимум секреции достигается при высоких концентрациях ацетилхолина (10^{-4} - 10^{-6} М), тогда как при продлении инкубации до 30-60 мин пик смещается в сторону более низкой концентрации (10^{-7} М и ниже), при этом клетки сохраняют чувствительность к нейромедиатору вплоть до концентрации 10^{-10} М, что расширяет представления о физиологических диапазонах холинергической регуляции. Кроме того, впервые показано, что устойчивые к гидролизу аналоги ацетилхолина карбахолин и ацетилтиохолин воспроизводят его стимулирующий холинергический эффект, но обладают различной селективностью в отношении секретируемых медиаторов. Впервые продемонстрирована универсальность ингибирующего эффекта ацетилхолина, не зависящая от природы активирующего стимула и

внутриклеточных путей передачи сигнала, что свидетельствует о влиянии холинергической стимуляции на общие эффекторные механизмы экзоцитоза гранул.

Достоверность полученных результатов

Выполненные Кутуковой Н.А. исследования проведены с использованием современных объективных методов на сертифицированном оборудовании. Достоверность научных положений подтверждена воспроизводимостью результатов в серии независимых экспериментов и корректной статистической обработкой. Объем проведенных исследований соответствует критериям, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Выводы диссертации логически вытекают из полученных экспериментальных данных, полностью соответствуют поставленным задачам и являются обоснованными. Установлено, что результаты диссертационной работы являются достоверными.

Научная новизна диссертационной работы

В диссертационной работе Кутуковой Н.А. получен ряд новых данных о холинергической модуляции рецепторных функций тучных клеток. Впервые показано, что ответ тучных клеток на холинергическую стимуляцию носит дуалистический характер и зависит от исходного функционального состояния клеток. Ацетилхолин выступает как активатор дегрануляции интактных тучных клеток (через мускариновые рецепторы) и как ингибитор секреторного ответа тучных клеток, активированных классическими индукторами (через никотиновые рецепторы).

Впервые проведен систематический анализ дозозависимых и времязависимых закономерностей стимулирующего эффекта ацетилхолина. Показано смещение пика секреторного ответа тучных клеток от высоких

(импульсных) концентраций нейромедиатора к низким (внеимпульсным, наномолярным) при пролонгации времени инкубации.

Впервые выявлено, что ингибирующий эффект ацетилхолина в отношении тучных клеток не зависит ни от природы индукторов, ни от связанных с ними путей активации, что указывает на универсальный характер холинергического противовоспалительного механизма.

Впервые показаны различия в селективности стабильных аналогов ацетилхолина (карбахолина и ацетилтиохолина) в отношении секреции различных медиаторов тучных клеток (гистамина и β -гексозаминидазы).

Теоретическая значимость диссертационной работы

Теоретическая значимость диссертационного исследования Н.А. Кутуковой не вызывает сомнений. Результаты работы существенно расширяют современные представления о роли ацетилхолина как двунаправленного регулятора эффекторных функций тучных клеток, что вносит вклад в понимание физиологических механизмах функционирования нейро-мастоцитарной единицы. Автором предложена модель, согласно которой эфферентный холинергический сигнал может как инициировать, так и ограничивать секреторный ответ тучных клеток в зависимости от стадии воспалительного процесса и амплитуды нервного импульса, осуществляя таким образом контроль остроты воспаления.

Результаты, полученные в исследовании, восполняют теоретический пробел в понимании целостной системы нейро-иммунных взаимодействий, раскрывая новые аспекты двусторонней сигнализации, обеспечивающей как передачу в ЦНС информации о локализации тканевого повреждения и выраженности воспаления, так и о роли эфферентного сигнала в запуске и регуляции воспалительного процесса.

Научно-практическая значимость диссертационной работы

Диссертационная работа Кутуковой Н.А. обладает высокой научной и практической ценностью, вносит существенный вклад в развитие патофизиологии и иммунологии и формирует теоретическую базу для разработки новых подходов к лечению аллергических и контролю воспалительных процессов, опосредованных тучными клетками.

С точки зрения научной значимости, в работе впервые в рамках одного исследования проведен комплексный сравнительный анализ эффектов ацетилхолина на функциональную активность тучных клеток. Принципиально новым является установленный автором дуалистический характер холинергической регуляции тучных клеток, зависящий от их исходного функционального состояния. Показано, что ацетилхолин через мускариновые рецепторы (преимущественно подтипа М3) выступает в роли самостоятельного активатора дегрануляции интактных мастоцитов, тогда как через никотиновые рецепторы (в частности, содержащие $\alpha 7$ -субъединицу) реализует противовоспалительный эффект в отношении тучных клеток, активированных классическими иммунологическими и неиммунологическими индукторами. Данное открытие меняет сложившиеся представления о роли холинергической системы в контроле воспаления и расширяет понимание механизмов функционирования нейро-мастоцитарных единиц.

Одним из наиболее значимых результатов работы является экспериментальное обоснование нового подхода к регуляции функциональной активности тучных клеток, предусматривающего избирательную фармакологическую модуляцию их рецепторного аппарата. Показано, что для подавления избыточной дегрануляции тучных клеток при аллергических и неаллергических реакциях и блокады хронизации воспаления могут использоваться как агонисты никотиновых рецепторов, так и антагонисты мускариновых рецепторов, в зависимости от стадии

воспалительного процесса. Это создает предпосылки для разработки персонализированных подходов к терапии воспалительных заболеваний с учетом фазы патологического процесса.

Особое значение имеют результаты, устанавливающие оптимальные концентрационные и временные режимы использования ацетилхолина и его стабильных аналогов (карбахолина и ацетилтиохолина) в экспериментах *in vitro* и *ex vivo*. Выявленные закономерности - смещение пика стимулирующего эффекта от высоких концентраций (10^{-4} - 10^{-6} М) при краткосрочной инкубации (5-15 мин) к низким концентрациям (10^{-7} М) при пролонгированной экспозиции (30-60 мин) - имеют непосредственное прикладное значение для планирования и интерпретации экспериментальных исследований. Продемонстрированная способность тучных клеток сохранять чувствительность к ацетилхолину в диапазоне вплоть до 10^{-10} М указывает на вовлеченность механизмов не-нейрональной холинергической регуляции и расширяет представления о физиологических концентрациях нейромедиатора, значимых для иммунной системы.

Практическая ценность работы подтверждается прямой связью полученных результатов с патогенезом ряда широко распространенных заболеваний. Выявленные механизмы мускариновой активации тучных клеток имеют непосредственное отношение к патогенезу бронхиальной астмы, холинергической крапивницы и атопического дерматита. Показанная в работе роль мускаринового рецептора М3 в стимуляции дегрануляции тучных клеток согласуется с современными представлениями о нейро-мастоцитарных взаимодействиях при бронхоспазме и кожных проявлениях холинергической крапивницы. В то же время, установленный ингибирующий эффект ацетилхолина в отношении тучных клеток через $\alpha 7$ -субъединицу никотинового рецептора открывает перспективы для применения агонистов данного рецептора в качестве противовоспалительных средств при

аллергических заболеваниях, что подтверждается соответствием полученных данных концепции холинергического противовоспалительного пути.

Материалы диссертации могут быть использованы в образовательных программах при подготовке студентов медицинских и биологических специальностей по курсам патофизиологии и иммунологии, а также представляют несомненный интерес для научных организаций, занимающихся исследованиями в области патофизиологии, нейро-иммунологии, аллергологии и фармакологии.

Таким образом, результаты диссертационной работы Кутуковой Н.А. имеют высокое научно-практическое значение, формируют новую теоретическую платформу для понимания механизмов нейро-иммунной регуляции и обосновывают перспективность разработки новых терапевтических стратегий, направленных на контроль активности тучных клеток при аллергических и воспалительных заболеваниях.

Личный вклад автора

Автор непосредственно участвовал во всех этапах выполнения диссертационного исследования: анализе литературных данных, планировании дизайна исследования, постановке задач и проведении экспериментов (включая культуральную работу, работу с животными, постановку биохимических и иммунофенотипических анализов), обработке и интерпретации результатов, а также подготовке публикаций по выполненной работе.

Общая характеристика диссертационной работы

Диссертация изложена на 147 страницах машинописного текста, состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты исследования, обсуждение результатов, заключение, выводы, список сокращений, список литературы. Работа проиллюстрирована

32 рисунками и 21 таблицей. Библиографический указатель содержит 227 источников, в том числе 20 на русском языке и 207 на иностранных языках.

Введение имеет традиционную для диссертационного исследования структуру, в котором автор обосновывает актуальность выбранной темы диссертационного исследования, раскрывает степень ее разработанности, формулирует цель и задачи, а также научную новизну, описывает теоретическую и практическую значимость работы, формулирует положения, выносимые на защиту, степень достоверности, указывает личный вклад в проведении исследования, а также апробацию результатов исследования.

В главе 1 «Обзор литературы» подробно описана морфология тучных клеток и состав их гранул, описаны основные рецепторы тучных клеток и пути их активации, в том числе мускариновые и никотиновые ацетилхолиновые рецепторы. Приведены литературные данные о структуре и работе нейро-мастоцитарной функциональной единицы, в рамках которой описаны функциональные взаимодействия тучных клеток с пептидергическими, катехоламинергическими и холинергическими нервными волокнами.

В главе 2 «Материалы и методы» обстоятельно изложены методы получения обогащенной тучными клетками суспензии клеток перитонеального экссудата мышей и ее иммунофенотипирования, культуральные и гистохимические методы, методы активации тучных клеток, методы фармакологического анализа с использованием агонистов и антагонистов ацетилхолиновых рецепторов, а также биохимические методы для оценки уровня секреторной активности тучных клеток. Описание материалов и методов подтверждает высокий и современный научно-методический уровень работы и соответствует критерию воспроизводимости.

Описание полученных результатов (Глава 3) занимают основное место в диссертационном исследовании. Автор скупкулезно и последовательно

описывает результаты дозозависимых и времязависимых эффектов ацетилхолина на функциональную активность клеток человека линии НМС-1 и перитонельных тучных клеток мыши. Автор также сравнивает действие ацетилхолина с действием его стабильных аналогов, карбахолина и ацетилтиохолина. С использованием широкого набора селективных агонистов и антагонистов холинорецепторов автором убедительно показано, что стимулирующее действие ацетилхолина на интактные тучные клетки реализуется через мускариновые рецепторы преимущественно подтипа М3, тогда как ингибирующее влияние на активированные клетки опосредовано $\alpha 7$ -субъединицей никотиновых рецепторов. Полученные результаты показали, что ответ тучных клеток на холинергическую стимуляцию носит дуалистический характер и зависит от исходного состояния клеток.

В главе 4 «Обсуждение результатов» полученные в работе данные сопоставляются с данными литературы. Автор логично связывает выявленные закономерности с функциональной ролью тучных клеток в качестве эффекторов и рецепторов, обсуждает возможные механизмы смены рецепторного профиля в ходе дегрануляции и обосновывает гипотезу о том, что локализация никотиновых рецепторов на мембране гранул может определять переключение с провоспалительного сигнала на противовоспалительный при эфферентной холинергической стимуляции.

Заключение работы кратко суммирует ключевые выводы и обозначает перспективы практического применения полученных результатов. Выводы диссертации полностью соответствуют поставленным задачам, логически вытекают из экспериментальных данных и являются доказательными.

Диссертационная работа выполнена на высоком научно-методическом уровне и представляет собой целостное, завершенное научное исследование.

Основные результаты диссертации опубликованы в 23 печатных работах, в том числе 10 статей в рецензируемых периодических научных изданиях, рекомендованных для публикации материалов докторских и

кандидатских диссертаций, 13 публикаций в материалах всероссийских и международных научных конференций.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Заключение

Диссертационная работа Кутуковой Надежды Александровны «Механизмы холинергической регуляции рецепторных функций тучных клеток» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям «3.3.3. Патологическая физиология» и «3.2.7. Иммунология» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальных задач, имеющих существенное значение для патологической физиологии и иммунологии: установлены механизмы двунаправленной холинергической регуляции эффекторных функций тучных клеток, заключающиеся в стимуляции дегрануляции интактных клеток через мускариновые рецепторы и ингибировании активированных клеток через никотиновые рецепторы; выявлены дозозависимые и времязависимые закономерности этих эффектов; обоснована перспективность использования агонистов никотиновых рецепторов и антагонистов мускариновых рецепторов для фармакологической коррекции аллергических и иных воспалительных процессов.

Диссертационная работа Кутуковой Н.А. полностью соответствует требованиям, предъявленным к кандидатским диссертациям (п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. в актуальной редакции), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям «3.3.3. Патологическая физиология» и «3.2.7. Иммунология».

Ведущая организация подтверждает, что Кутукова Н.А. не является ее сотрудником и не имеет научных работ, подготовленных на базе ведущей организации или в соавторстве с ее сотрудниками.

Отзыв заслушан, обсужден и утвержден на расширенном заседании лабораторий адаптивного иммунитета и противовирусного иммунитета ГНЦ ФГБУ «НМИЦ аллергологии и иммунологии» ФМБА России (протокол №3 от 02.09.2026).

Заведующий лабораторией
адаптивного иммунитета,
доктор биологические наук



Шершакова Надежда Николаевна

«03» 09 2026 г.



Государственный научный центр Российской Федерации – федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр аллергологии и иммунологии» Федерального медико-биологического агентства (ГНЦ ФГБУ «НМИЦ аллергологии и иммунологии» ФМБА России). Адрес: 115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24. Телефон 8(499)6171027, адрес электронной почты info@nrcii.ru, официальный сайт nrcii.ru.