

**ОТЗЫВ**  
**официального оппонента на диссертацию**  
**на соискание ученой степени**  
**доктора биологических наук Кузьмина Владислава Стефановича**  
**на тему: «Тканевые механизмы проаритмической активности миокарда**  
**легочных вен»**  
**по специальности 1.5.5 – «Физиология человека и животных»**

**Актуальность избранной темы**

Диссертационная работа Владислава Стефановича Кузьмина посвящена комплексному исследованию электрофизиологических свойств специфической миокардиальной ткани, располагающейся в стенке легочных вен (ЛВ), а также механизмов нервной регуляции ее активности. Актуальность исследования связана с многочисленными сведениями о спонтанной активности миокарда ЛВ, что обуславливает его участие в формировании фибрилляции предсердий – одного из наиболее распространенных типов сердечных аритмий. При этом до настоящего времени отсутствовала физиологическая основа для понимания проаритмогенной активности миокарда ЛВ, не были выяснены особенности формирования и проявлений электрической активности в этой ткани, механизмы нейромедиаторной рецепции и передачи адренергических и холинергических воздействий, а также структурные свойства ткани. Диссертационная работа Кузьмина В.С. является систематизирующей работой, объединяющей полученные автором новые сведения о клеточной и тканевой электрофизиологии ЛВ и механизмах ее регуляции в систему представлений о ее значении в аритмогенезе и дающей перспективы для ее предотвращения.

**Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 291 странице. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов, обсуждения и заключения, выводов, а также списка цитируемых источников из 321-го наименования. Работа проиллюстрирована 132 рисунками. Обзор литературных демонстрирует глубокое изучение имеющихся данных в исследуемой области и знание современного состояния проблемы. В тексте диссертации полностью раскрыты результаты выполненного исследования, демонстрирующие масштабность проведенного исследования, и проведено их детальное обсуждение. Диссертационная работа представляет собой целостный и законченный труд.

**Научная новизна результатов и обоснованность основных положений диссертации, выносимых на защиту**

Результаты получены при помощи разнообразных современных методов экспериментального исследования. Наряду с классическими методами клеточной электрофизиологии использованы флюоресцентные методы:

регистрации биоэлектрической активности в ткани, а также гистохимические и молекулярно-биологические методы структурно-функциональных исследований. Исследование проведено с использованием различных лабораторных животных. Кузьмин В.С. впервые провел детальное, в том числе сравнительно-физиологическое исследование биоэлектрических свойств миокарда ЛВ. Автором впервые показано, что миокард легочных вен мышей межлинейных гибридов B6CBAF1 (гибридов первого поколения линий C57Bl/6 и CBA) проявляет генетически обусловленную аритмогенность благодаря эктопической автоматии и триггерной активности, возникающей при неонатальном фенотипе симпатической иннервации у взрослых животных.

В работе В.С. Кузьмина впервые выявлены особенности распространения волн возбуждения в миокардиальной ткани ЛВ мышей, крыс, морских свинок, кроликов и показано, что в базальных условиях, в легочных венах паттерн активации близок к таковому в рабочем предсердном миокарде.

Впервые установлена роль адренергической стимуляции в проявлениях автоматии ЛВ. Показано, что симпатическая или адренергическая эктопия легочных вен характерна для всех лабораторных животных; установлено, что адренергическая стимуляция индуцирует залпы спонтанных потенциалов действия, имеющие непостоянную частоту и межзалповые интервалы.

Автором впервые детально изучены рецепторные механизмы, а также внутриклеточные сигнальные каскады, опосредующие внутриклеточную передачу сигналов при активации адренорецепторов, установлена роль белков, участвующих в круговороте цитоплазматического кальция, как медиаторов адренергических сигналов в ЛВ.

Впервые показано, что малые некодирующие РНК, такие как miR-486-3p, miR-1, miR-133a-3p, специфически экспрессируемые в суправентрикулярных отделах сердца, модулируют биоэлектрическую активность миокарда легочных вен. В частности, установлено, что miR-133a-3p стимулирует постдеполяризацию, подавляет способность поддержания потенциала покоя и усиливает залповый проаритмический тип эктопической активности, вызванной норадреналином.

Впервые выявлена высокая гетерогенность электрофизиологических характеристик миокарда ЛВ как его фундаментальное свойство. Установлено, что для проксимальных и дистальных участков легочных вен всех изученных видов животных характерен значительный разброс уровня потенциала покоя, длительности потенциалов действия, периодов рефрактерности, а также длины волны возбуждения.

В работе впервые детально изучены изменения симпатической иннервации легочных вен в постнатальном онтогенезе у нескольких видов животных. Установлено, что сеть симпатических нервных волокон, плотность симпатических терминалей существенно неоднородна, и локализация областей повышенной плотности симпатической иннервации в устьях ветвей вен коррелируют с локализацией эктопических фокусов.

Таким образом, автором убедительно продемонстрировано, что наряду с пространственной гетерогенностью электрофизиологических характеристик, негомогенность симпатической иннервации являются основными причинами аритмогенеза, в тех условиях, когда в ткани наблюдается «предсердный» тип проведения возбуждения и «предсердный» профиль экспрессии белков щелевых контактов.

В диссертационной работе Кузьмина В.С. впервые выявлена значимость адренорецепторов  $\alpha 1$ -типа и их внутриклеточного сигнального каскада как медиаторов адренергических эффектов в ЛВ. Установлено, что активация именно  $\alpha$ -адренергической компоненты симпатической иннервации оказывает проаритмическое действие в легочных венах, выраженное в деполяризации мембраны кардиомиоцитов, индукции залпов эктопических потенциалов действия, усиления электрической гетерогенности ткани, локального замедления и блоков проведения возбуждения в миокарде легочных вен.

Наконец, автором впервые показано, что кардиомиоциты ЛВ отличаются по совокупности электрофизиологических и молекулярных свойств (экспрессия каналов HCN, транскрипционного фактора Nkx2-5) от кардиомиоцитов пейсмекерного и рабочего миокарда. Это позволяет их классифицировать как особую группу миоцитов сердца.

Резюмируя, можно заключить, что Кузьминым В.С. получены результаты, описывающие фундаментальные аспекты физиологии наджелудочковых структур сердца млекопитающих животных и демонстрирующие роль миокарда ЛВ в аритмогенезе сердца.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Работа Кузьмина В.С. имеет безусловное теоретическое значение. Автором выявлены общие физиологические закономерности биоэлектрической активности и вегетативной регуляции «экстракардиального» миокарда ЛВ. Установлены ключевые особенности тканевой организации миокарда ЛВ, обуславливающие аритмогенность этой ткани. Показано, что гетерогенность электрофизиологических свойств кардиомиоцитов и анизотропия ткани являются наиболее важными факторами аритмогенеза ЛВ. Фундаментальное значение имеет впервые выявленная и изученная автором роль адренорецепторов альфа-подтипа в регуляции электрической активности и эктопической автоматии ЛВ. Важным теоретическим достижением является демонстрация особого фенотипа миокарда ЛВ, избирательно проявляющего свойства автоматии при адренергической стимуляции и отличного как от миокарда предсердий, так и синоатриального узла и проводящей системы сердца.

С прикладной точки зрения результаты работы Кузьмина В.С. способствуют разработке животных моделей предсердных аритмий, разработке новых подходов предотвращения или терапии тахиаритмий. В частности, диссертационная работа Кузьмина В.С. демонстрирует необходимость учитывать эффекты, опосредуемые альфа-адренорецепторами,

а также кардиоспецифическими малыми некодирующими РНК, при разработке методов коррекции ритма сердца.

### **Достоверность результатов исследования**

Достоверность представленных в диссертации обусловлена использованием современных экспериментальных методов и грамотным применением методов статистического анализа данных.

Гипотезы, предложенные автором, обоснованы полученными результатами, собственные и литературные данные интегрированы в единую концепцию. Выводы, сделанные в работе, объективны и обоснованы, вытекают из полученных автором данных. Научные положения и выводы соответствуют поставленным задачам и согласуются с современными представлениями о молекулярных основах электрофизиологических свойств кардиомиоцитов.

Оригинальность и состоятельность полученных результатов подтверждается публикацией статей в рецензируемых высокорейтинговых научных журналах (34 статьи, 16 в международных системах цитирования, в том числе 10 статей в журналах первого квартиля (Q1 SJR)). Обоснованность и новизна исследования подтверждена также многократной поддержкой грантами научных фондов (РФФИ, РФ). Результаты работы представлены на многих авторитетных отечественных и международных конференциях.

### **Замечания и вопросы по диссертации**

В порядке дискуссии хочу задать следующие вопросы:

1. Как автор видит физиологические причины, почему по мере взросления организма приобретаются свойства миокарда, которые способны усиливать аритмогенную активность ЛВ.

2. Автором показано, что альфа-адренорецепторы являются ключевым звеном, контролирующим электрофизиологические свойства ЛВ. Обсуждаются несколько механизмов, которые определяют аритмогенные эффекты активации альфа-адренорецепторов в миокарде ЛВ. А какие же физиологические механизмы предотвращения аритмогенных эффектов активации альфа-адренорецепторов в нормальном миокарде, обуславливающие низкую вероятность возникновения аритмий?

3. Что известно ли про роль альфа-адренорецепторов для физиологической регуляции электрической активности в синоатриальном узле, в проводящей системе сердца? Является ли она проаритмогенной и какими механизмами эта роль нивелируется?

4. Известны ли фармакологически активные препараты, влияющие на экспрессию микро-РНК (или на основе микро-РНК), которые могли бы потенциально быть использованы для ингибирования спонтанной активности миокарда ЛВ?

Вышеперечисленные вопросы не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы и не влияют на обоснованность положений и

выводов. Диссертационное исследование Кузьмина В.С. безусловно можно квалифицировать как работу, в которой решена существенная современная научная проблема фундаментальной физиологии – описаны клеточные и тканевые характеристики электрофизиологической функции особого типа миокардиальной ткани ЛВ, выяснены механизмы регуляции ее активности, определена природа и механизмы аритмогенной активности и потенциальные мишени воздействия. Диссертационная работа Кузьмина В.С. развивает современные представления о механизмах автоматии в сердце.

### **Заключение**

Диссертационная работа Кузьмина В.С. является значимым актуальным исследованием в области электрофизиологии сердца. Новые сведения, полученные в исследовании Кузьмина В.С., вносят существенный вклад в фундаментальную физиологию сердца, дают новые представления о природе автоматии миокарда и нервной регуляции его функций. Выяснение роли альфа-адренергических сигнальных каскадов в регуляции эктопической активности миокарда ЛВ и другие результаты работы открывают новые перспективы для таргетной терапии сердечных аритмий.

Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.5.5 – «Физиология человека и животных» по биологическим наукам, а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, а также оформлена, согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Считаю, что соискатель Кузьмин Владислав Стефанович заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.5 – «Физиология человека и животных».

23 января 2023 г.

Официальный оппонент:

доктор физико-математических наук,  
профессор,

заведующая лабораторией математической  
физиологии имени В.С. Мархасина, директор  
ФГБУН Институт иммунологии и физиологии  
Уральского отделения  
Российской академии наук

*Соловьёва О.Э.*  
*Соловьёва О.Э. заверяю*

Главный специалист по кадрам  
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт иммунологии и физиологии  
Уральского отделения Российской академии наук  
*Ю.А. Нахматулина*  
Ю.А. Нахматулина

