

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора Маслюкова Петра Михайловича на диссертационную работу Кузьмина Владислава Стефановича «Тканевые механизмы проаритмической активности миокарда легочных вен» на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.5 – физиология человека и животных

Актуальность темы исследования

Заболевания сердечно-сосудистой системы занимают ведущее место среди причин смертности населения. При этом среди заболеваний сердечно-сосудистой системы сердечные аритмии являются одними из самых распространенных, а фибрилляция предсердий - крайне часто встречающейся формой нарушения ритма сердца. К настоящему моменту установлено, что эктопические, внеузловые очаги возбуждения, приводящие к фибрилляции предсердий, в подавляющем количестве случаев обнаруживаются в миокардиальной ткани, располагающейся в стенке легочных вен. Тем не менее, ключевые факторы и механизмы инициации фибрилляции предсердий в миокардиальной ткани легочных вен, остаются неизвестными. Таким образом, диссертационная работа, направленная на изучение электрофизиологических свойств миокардиальной ткани легочных вен различных млекопитающих, роли симпатических и парасимпатических механизмов лежащих в основе аритмогенности данной ткани, а также факторов тканевой организации миокарда легочных вен, обуславливающих формирование в легочных венах функционального субстрата тахиаритмий, является, безусловно, актуальной.

Научная новизна и практическая значимость

В диссертационной работе впервые проведено комплексное изучение анатомических особенностей, плотности симпатической иннервации, биоэлектрических свойств и особенности распространения и проведения волн возбуждения в миокардиальной ткани легочных вен нескольких видов лабораторных млекопитающих животных. Используя фармакологические методы, иммунофлюоресцентную микроскопия и РВ-ПЦР, автор убедительно доказал, что миокардиальные клетки легочных вен обладают фенотипом, отличным как от предсердного, так и пейсмекерного миокарда.

В работе получены новые данные о роли адreno- и холинорецепторов в аритмогенезе миокардиальных клеток легочных вен. При этом впервые доказана важная роль адренорецепторов $\alpha 1$ -типа, активация которых усиливает проаритмические свойства миокардиальной ткани легочных вен за счет подавления проведения и формирования блоков возбуждения в сочетании с пространственно-гетерогенным возрастанием длительности потенциалов действия.

Новыми являются данные о роли микроРНК, в частности miR-486-3p, miR-1, miR-133a-3p модулируют эктопическую автоматию, вызванную адренергической стимуляцией, в миокарде легочных вен.

Полученные научные результаты имеют практическое значение, поскольку указывают на возможность применения изучаемой генно-клеточной конструкции для коррекции некоторых нейропатологических нарушений в модели болезни Альцгеймера. Эти данные вносят вклад в развитие клеточной и генно-клеточной медицины.

Степень достоверности и обоснованности результатов работы, положения и выводов

Поставленные задачи полностью соответствуют цели исследования. Для решения задач были выбраны адекватные методы, подробно описанные в тексте диссертации. В частности, проведены электрофизиологические, фармакологические, молекулярно-биологические и иммуногистохимические эксперименты. Объем проведенных экспериментов достаточен для получения статистически достоверных результатов. Полученные автором экспериментальные данные хорошо документированы и проиллюстрированы в работе. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Таким образом, положение и выводы, выносимые на защиту, являются обоснованными и достоверными.

Материалы диссертации достаточно полно отражены в 34 статьях (из них 16 в журналах индексируемых аналитической базой Web of Science 'core collection') и 37 тезисов в сборниках докладов всероссийских и международных научных конференций.

Общая характеристика работы

Диссертационная работа изложена на 291 странице, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов, обсуждения полученных данных, заключения, выводов и списка цитированной литературы. Список литературы включает 321 источник. Работа проиллюстрирована 132 рисунками.

Во введении диссертант обозначил актуальность работы, озвучил цели и задачи, сформулировал положение, выносимое на защиту, обосновал научную новизну, научно-практическую значимость, степень достоверности и апробации работы, предоставил информацию о личном вкладе, количестве публикаций по теме диссертации, структуре и объеме диссертации.

Представленный в работе обзор литературы состоит из 5 разделов и включает сведения о строении полых вен, структуре миокардиальной ткани в стенке данных сосудов, гипотезах происхождения, эмбрионального развития и морфогенезе миокардиальной ткани легочных вен. Также в обзоре литературы приведены сведения о механических и электрофизиологических свойствах кардиомиоцитов полых вен, а также сведения о миокардиальной ткани легочных вен как источнике предсердных аритмий. Обзор литературы написан хорошим научным языком и свидетельствует о хорошем умении автора обобщать и представлять литературные данные.

В разделе «Объект и методы исследования» дается подробное описание объектов и протоколов исследования с указанием примененных реагентов и оборудования, способов получения и статистической обработки данных. В целом можно заключить, что диссертационная работа выполнена на высоком методическом уровне.

Раздел «Результаты и их обсуждение» состоит из 6 разделов: «Общая анатомическая организация легочных вен некоторых млекопитающих животных», «Биоэлектрическая активность миокардиальной ткани легочных вен млекопитающих», «Хронотопография активации миокардиальной ткани легочных вен», «Иммуноэкспрессия белков щелевых контактов в миокардиальной ткани легочных вен», «Симпатическая иннервация легочных вен» и «Экспрессия транскрипционного фактора Nkx2-5 в миокардиальной ткани легочных вен». В

первом разделе приводятся данные об анатомии легочных вен у животных разных видов, а также об иммуноэкспрессии десмина у крыс в постнатальном онтогенезе, что подтверждает наличие кардиомиоцитов в легочных венах. Во втором разделе описаны основные электрофизиологические характеристики кардиомиоцитов легочных вен, а также об изменении их биоэлектрической активности под влиянием различных препаратов, в том числе агонистов и антагонистов холино и адренорецепторов, а также агентов, регулирующих внутриклеточный баланс цАМФ и факторов эндотелия. Также исследована роль пеймекерного тока I_f и влияние стимуляции интрамуральных постганглионарных нервов на биоэлектрическую активность миокардиальной ткани легочных вен крысы. В третьем разделе приводятся данные о распространении возбуждения в миокардиальной ткани легочных вен разных видов животных, в том числе и при различной стимуляции. В четвертом разделе приведены данные по иммуноэкспрессии белков щелевых контактов Sx40, Sx43 и Sx45 в миокарде легочных вен и предсердий новорожденных и взрослых крыс. В пятом разделе охарактеризована симпатическая иннервация миокардиальной ткани легочных вен крыс и мышей. Шестой раздел - самый маленький по объему, в нем оценен относительный уровень экспрессии транскрипционного фактора Nkx2-5 в предсердном миокарде и миокарде легочных вен крысы на 7 и 60 сутки постнатальной жизни.

В главах «Обсуждение» и «Заключение» обобщаются полученные в ходе диссертационного исследования результаты, а также результаты, полученные при участии диссертанта ранее. Автор приходит к заключению, что наиболее приемлемым объектом для экспериментального исследования аритмогенеза легочных вен, особенно тканевых его аспектов, среди мелких лабораторных животных, являются крысы и мыши. Обсуждается интерпретация результатов экспериментальных исследований с клиническими данными, механизмы аритмогенеза в миокарде легочных вен, а также роль α -адренергической составляющей симпатической регуляции в формировании тахиаритмий.

В разделе «Выводы» автор представляет 7 выводов, соответствующих задачам и отражающих полученные результаты.

Содержание автореферата полностью соответствует содержанию диссертационного исследования

Некорректных заимствований в текстах диссертации и автореферата не выявлено; цитирование оформлено корректно; заимствованного материала, использованного в диссертации без ссылки на автора либо источник заимствования, не обнаружено; научных работ, выполненных соискателем ученой степени в соавторстве, без ссылок на соавторов, не выявлено.

Диссертация обладает внутренним единством и содержит новые научные результаты и положения, выдвигаемые для защиты.

Замечания и вопросы по диссертации

Замечания:

1. В тексте имеются опечатки, неудачные выражения.
2. В литературном обзоре отсутствуют сведения о микроРНК.
3. В разделе «Методы» не указано число животных, распределение по группам, а также отсутствуют сведения о параметрах электрической стимуляции

вегетативных нервов и особенностей введения микроРНК.

Вопросы:

1. Чем обусловлен выбор используемых микроРНК?
2. В последовательности нуклеотидов микроРНК крысы (rno-mir) и мыши (mmu-mir) есть небольшие отличия, например, у мыши miR-1 есть варианты miR1a и 1b. В экспериментах на крысах и мышах использовались специфичные для каждого вида?
3. Классически считается, что микроРНК оказывает эффекты сайленсинга генов, которое проявляется спустя часы или сутки. В тоже время, в последней литературе описываются эффекты микроРНК miR-1, которые связаны непосредственно со взаимодействием с K⁺ каналами. Хочется услышать мнение диссертанта по поводу возможного механизма действия примененных микроРНК.
4. МикроРНК является полярной молекулой, плохо проникающей через мембрану и подвергающейся действию РНКаз. Были ли использованы методы облегчения доставки и/или модификации, продлевающее время действия препарата?
5. Применялись ли антагонисты микроРНК (антисмысловые)?
6. Исследовалась ли экспрессия Sx40, Sx43 и Sx45 в миокарде легочных вен и предсердий не только у новорожденных и взрослых крыс, но и других этапах онтогенеза? Наблюдалась ли колокализация Sx40 и Sx43 у юных животных?
7. Для исследования влияния автономных нервов на кардиомиоциты легочных вен использовалась высокочастотная электрическая стимуляция. Тем не менее, данные литературы свидетельствуют, что стимуляция с частотой выше 20 Гц приводит к выделению нейропептидов, в частности нейропептида Y, который содержится во всех нейронах интрамуральных сердечных узлов крысы. Учитывался ли в работе возможный эффект нейропептида Y на кардиомиоциты?

Высказанные замечания и вопросы не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы как квалификационного научного труда и не ставят под сомнение обоснованность ее основных положений и выводов. Диссертационную работу Кузьмина В.С. можно квалифицировать как научное достижение в области фундаментальной электрофизиологии сердца; на основании выполненных исследований автором решена важная научная проблема – раскрыты новые механизмы аритмогенеза и регуляции электрической активности миокардиальной ткани, что вносит значительный вклад в развитие способов предотвращения нарушений ритма сердца.

Заключение

Диссертационная работа Кузьмина В.С. несомненно является современным, актуальным, законченным исследованием, которое вносит значительный вклад в понимание причин аритмогенности миокардиальной ткани стенки вен, механизмов внеузловой автоматии, раскрывает роль симпатической регуляции в формировании тахиаритмий.

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.

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

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии с биофизикой ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России

«16» января 2023 г.

Маслюков Петр Михайлович

Сведения об официальном оппоненте:

Маслюков Петр Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии с биофизикой ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России.

Полное название организации: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Сокращенное название организации: ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России.

Почтовый адрес: 150000, г. Ярославль, ул. Революционная, 5.

Телефон:

Сайт организации: <https://ysmu.ru/ru/>

E-mail: rector@ysmu.ru

E-mail оппонента:

Подпись Маслюкова П.М.
заверяю
ученой степенью
Мельникова И.И.