

ОТЗЫВ

официального оппонента Екатерины Валентиновны Лопатиной на диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук Яны Алексеевны Ворониной на тему: «Механизмы регуляции проведения возбуждения и ритма сердца, опосредованные пуриновыми P2-рецепторами и адренорецепторами альфа-типа» по специальности 1.5.5 – «Физиология человека и животных»

Актуальность темы диссертационной работы

Синдром слабости синусового узла – это генерализованное нарушение автоматизма синусового узла (СУ). Синдром может сопровождаться выраженной синусовой брадикардией, остановкой работы СУ или синоатриальной блокадой. В ряде случаев наблюдается комбинация нарушений синоатриальной и атрио-вентрикулярной проводимости. С возрастом число пациентов, имеющих в анамнезе патологию сердечно-сосудистой системы, сопровождающуюся наличием аритмии только растет. В настоящее время основным методом коррекции этого состояния является имплантация электрокардиостимулятора. Поэтому изучение фундаментальных физиологических механизмов, фармакологическая модуляция которых может корректировать состояние синоатриального и атриовентрикулярного узлов проводящей системы сердца – важнейшее направление исследований экспериментальной физиологии и кардиологии.

Таким образом, актуальность работы Я.А. Ворониной, посвященной исследованию взаимосвязи между α_1 -адренергической и P2-пуринергической сигнализацией и роли трансмембранного транспорта хлорид-анионов в реализации эффектов активации α_1 - и P2-рецепторов в ходе передачи импульсов – синоатриальным и атриовентрикулярным узлами проводящей системы сердца не вызывает сомнений.

Научная новизна проведенных исследований и полученных результатов

При проведении исследования автору удалось оценить уровень мРНК α_{1A} -АР и выявить локализацию α_{1A} -АР в кардиомиоцитах крысы в ткани САУ

и АВУ. Впервые проведено комплексное исследование эффектов активации α_1 -АР и их механизмов. Я.А. Ворониной получены приоритетные данные о количестве зрелой мРНК хлорных ионных каналов и переносчиков в предсердном миокарде и миокардиальной ткани САУ и АВУ крысы. Экспериментально доказана значимость внутриклеточной концентрации ионов хлора в миокарде предсердия и САУ крысы. Впервые измерен уровень мРНК пуриновых P2-рецепторов и сопоставлены эффекты активации агонистов пуриновых P2-рецепторов в САУ и АВУ. Анализ экспериментальных данных позволил Я.А. Ворониной сформулировать гипотезу о сходстве конечных молекулярных мишеней сигнальных каскадов P2-рецепторов. Показано, что избыточная стимуляция как α_1 -АР, так и P2Y-рецепторов может привести к дисфункции атриовентрикулярного соединения. Проведенные исследования позволили доказать, что стимуляция α_1 -АР модулирует катион-хлорные котранспортеры, которые вовлечены в контроль автоматической активности САУ, а автоматия САУ зависит от осмолярности внеклеточной среды. Показано, что цитоплазматический хлор является фактором, регулирующим автоматию ритмоводителя сердца, впервые описаны механизмы регуляции его уровня.

Теоретическая и практическая значимость

Я.А. Ворониной сформулирована гипотеза о физиологической роли α_1 -АР в регуляции работы проводящей системы сердца, согласно которой α_1 -АР способствуют последовательной координации электрофизиологических свойств пейсмекеров за счет разнонаправленного характера α -адренергических эффектов в САУ и АВУ («облегчение» и подавление проведения возбуждения, соответственно) при высокой частоте сердечных сокращений. По мнению автора адренорецепторы α_1 -типа дополняют или ограничивают некоторые эффекты β -АР, физиологическая роль α_1 -АР заключается в поддержании работы САУ и синхронизации его активности с работой АВУ в тех условиях, когда β -адренергическая стимуляция задает чрезвычайно высокую ЧСС. Проведенные исследования позволили автору

обнаружить новые закономерности формирования биоэлектрической активности доминантного ритмоводителя сердца, оценить физиологическую роль хлорной анионной проводимости для реализации естественной пейсмекерной функции САУ, выявлены кандидаты на роль каналоподобных трансмембранных молекул, обуславливающих хлорную проводимость в пейсмекерных структурах сердца. В работе получены четкие указания на участие хлорного трансмембранного переноса в реализацию α -адренергических эффектов. Практическая значимость представленной работы заключается в том, что проведенное исследование позволило экспериментально обосновать поиск способов фармакотерапии слабости САУ, брадиаритмий, дисфункции АВУ с помощью модуляции отдельных популяций α_1 -адренорецепторов сердца. Результаты, полученные автором, доказывают необходимость поиска фармакологических средств, мишенями которых могут быть хлорные ионные каналы и транспортеры сердца.

Структура и содержание работы **Общая характеристика работы**

Работа Я.А. Ворониной построена по классическому образцу, изложена на 175 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов и их обсуждения, заключения выводов и библиографии, проиллюстрирована 53 рисунками и 9 таблицами. Список литературы включает 265 источников.

Во введении автор формулирует цели и задачи исследования, описывает его актуальность, новизну, теоретическую и практическую значимость. Обзор литературы формирует полное представление об особенностях функционирования проводящей системы сердца, физиологических особенностях водителей ритма в норме и при развитии патологии, роли адренорецепторов, пуринергической регуляции и хлорных ионных каналов в проведении возбуждения и степени важности поставленных перед диссертантом задач. Раздел «Материалы и методы» посвящен детальному описанию методических приемов, используемых в работе. Для решения

поставленных в работе задач автор использовала комплексный подход. Опыты проводили на крысах линии Wistar. В разных сериях экспериментов, объектами являлись как препараты ткани сердца крысы, так и изолированное сердце крысы, ряд исследований проведен *in vivo* с применением метода ЭКГ на наркотизированных животных. В работе использован иммунофлуоресцентный анализ, оценка уровня целевых мРНК методом РВ-ПЦР, РНК-секвенирование, электрофизиологические исследования, ЭКГ и регистрация ЧСС на наркотизированных животных, стандартный метод перфузии изолированного по Лангендорфу сердца, электрофизиологические методы исследования, оптическое картирование хронотопографии, меркуриметрический метод, Для анализа колебаний $[Ca^{2+}]_i$ в препарате САУ использовали метод, основанный на регистрации Ca^{2+} -зависимой флуоресценции зонда MQAE.

Статистическую обработку полученных результатов Я. А. Воронина также проводила комплексно, с помощью компьютерной программы GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, США) использовала программное обеспечение и анализ данных при помощи корректных критериев, адекватно поставленным в эксперименте задачам.

В главе «Результаты» автор детально описывает данные полученные в разных сериях опытов.

Глава «Обсуждение» посвящена анализу и сопоставлению собственных данных автора с уже известными фактами по изучаемой проблеме.

Глава «Заключение» обобщает полученные в ходе диссертационного исследования результаты.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, результатов и выводов

Научные положения достоверны. Результаты работы получены адекватными методами исследования на значительном фактическом материале. Выводы работы не вызывают сомнений, соответствуют поставленным задачам, достоверны и логично вытекают из результатов

проведенных автором исследований. Основные положения работы опубликованы в виде 4 статей, в изданиях индексируемых в базах данных РИНЦ, RSCI, Web of Science, Scopus и в журналах, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ имени М.В. Ломоносова по специальности 1.5.5 «Физиология человека и животных». Результаты диссертационной работы были представлены в виде докладов на всероссийских и международных конференциях и съездах, опубликовано 11 тезисов.

Диссертационное исследование соответствует паспорту специальности 1.5.5 «Физиология человека и животных», выполнено автором самостоятельно.

Автореферат в сжатой форме отражает суть проведенных автором исследований.

Замечания

Не совсем удачным моментом при изложении материала работы является тот факт, что указания на конкретный вид животного, которое является объектом исследования, появляется только в разделе Материалы и методы.

Вопросы

1. Можно ли сопоставить возраст объекта Ваших исследований с возрастом в котором, обычно происходит манифестация сердечной патологии, связанной со слабостью САУ?
2. В работе выявлена роль катион-хлорных котранспортеров КСС/НКСС в контроле ритма сердца при изменении осмолярности внеклеточной среды. Могут ли не только альфа-1-адренорецепторы, но и другие G-белок сопряженные рецепторы гормонов и медиаторов вегетативной нервной системы регулировать активность КСС/НКСС?
3. Могут ли нейромедиаторы норадреналин и ацетилхолин, влияя на КСС/НКСС, регулировать ритм сердца, формируемый в синоатриальном узле?

Замечание не затрагивает суть диссертационного исследования и носит технический характер. Вопросы носят дискуссионный характер.

Диссертация Яны Алексеевны Ворониной «Механизмы регуляции проведения возбуждения и ритма сердца, опосредованные пуриновыми P2-рецепторами и адренорецепторами альфа-типа» соответствует 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 требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Яна Алексеевна Воронина заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 «Физиология человека и животных».

Официальный оппонент

Доктор биологических наук, профессор

заведующий кафедрой физиологии

нормальной ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им.акад. И.П.Павлова

Екатерина Валентиновна Лопатина

« 6 » декабря 2024 года

Контактные данные:

тел.:

Специальность, по которой официальным
официальным оппонентом защищена диссертация

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология; 03.03.01 - физиология

Адрес места работы: 197022 Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого 6-8, ПСПбГМУ

им.акад. И.П. Павлова МЗ РФ, кафедра физиологии нормальной тел.;; Адрес

электронной почты:

Подпись сотрудника

ПСПбГМУ им.акад. И.П. Павлова МЗ РФ

Лопатиной Е.В. удостоверяю:

кадровый работник