

Отзыв официального оппонента

Кандидата биологических наук, Одношивкиной Юлии Геннадьевны на диссертационную работу Биличенко Андрея Сергеевича: «Влияние активации двух различных центров связывания растворимой гуанилатциклазы, реализующих NO-зависимый и NO-независимый механизмы, на регуляцию активируемых растяжением ионных каналов кардиомиоцитов желудочков сердца крыс» по специальности 1.5.5- Физиология человека и животных, представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Актуальность темы исследования

Работа Андрея Сергеевича Биличенко сосредоточена на одном из ключевых вопросов в области фундаментальной и прикладной кардиологии – изучении физиологических основ механоэлектрической обратной связи и возможностях ее регуляции в сердечной мышце. В основе этого явления лежит функционирование механоуправляемых ионных каналов, открывающихся в ответ на механическое растяжение клеток миокарда и создающих суммарный катион-неселективный ток. Эти токи являются основой изменения формы потенциалов действия, которое обычно наблюдается во время их реполяризации и проявляется в виде механоиндуцированной деполяризации. Это в свою очередь может привести к образованию дополнительных потенциалов действия и нарушению ритма. Поэтому разработка методов контроля и модуляции функционирования механоуправляемых ионных каналов для предотвращения аритмий является перспективным направлением.

Предпосылкой диссертационного исследования А.С.Биличенко послужили работы профессора А.Г.Камкина и его коллег, в которых было отмечено, что оксид азота (NO) необходим для активации механоуправляемых ионных каналов. А.С.Биличенко развивает и дополняет эту концепцию. Автор исследует воздействия активации двух различных участков связывания гуанилатциклазы в кардиомиоцитах желудочков сердца крыс на регуляцию активации механоуправляемых каналов через NO-

зависимые и NO-независимые механизмы. И хотя ряд исследователей предполагали участие оси NO-Гуанилатциклаза в потенциальной регуляции проводимости механоуправляемых ионных каналов, многие аспекты подобной регуляции и механизмы, лежащие в ее основе, ранее не были показаны.

Таким образом тема диссертационного исследования Андрея Сергеевича Биличенко безусловно является актуальной.

Научная новизна и практическая значимость

Научная новизна и практическая значимость работы Биличенко А.С. не вызывает сомнений. Впервые был продемонстрирован сложный характер участия NO в регуляции механосенситивных токов. С помощью стимуляции разных субъединиц растворимой гуанилатциклазы и ее блокирования, при использовании активатора и ингибитора сGMP-зависимой протеинкиназы, а также ингибитора S-нитрозилирования удалось показать влияние NO посредством разных сигнальных путей на параметры работы механоуправляемых ионных каналов в изолированных кардиомиоцитах крыс при отсутствии и наличии растяжения клетки. Так, например, автор показал, что помимо пути NO-sGC-sGMP возможно и прямое воздействие NO на механоуправляемые каналы, а также впервые продемонстрировал ключевую роль S-нитрозилирования в регулировании работы этих каналов. А путь NO-sGC-sGMP-PKG также задействован в данном процессе регуляции, однако с некоторой задержкой во времени.

Кроме того, автором получены уникальные данные о транскрипции генов, которые кодируют механоуправляемые ионные каналы и присутствуют в изолированных кардиомиоцитах крыс. Эти каналы формируют неселективный катионный ток и считаются потенциальными молекулярными мишенями для NO.

Таким образом, оценка возможного вклада NO в регуляцию активности механоуправляемых ионных каналов, включая NO-зависимый и NO-независимый пути активации sGC и S-нитрозилирования, представляется крайне важной для решения широкого спектра прикладных задач.

Достоверность полученных данных

Для решения поставленных задач был выбран широко используемый в настоящее время метод патч-кламп в конфигурации whole cell для исследования электрофизиологических характеристик изолированных кардиомиоцитов крыс. Полученные результаты хорошо проиллюстрированы в работе. Полученный массив данных был корректно статистически проанализирован: значимые различия были определены с помощью однофакторного дисперсионного анализа для повторяющихся измерений с применением теста Холма-Сидэка в качестве посттеста. Нормальное распределение выборок в эксперименте проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Надёжность полученных данных не вызывает сомнений.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научные положения и выводы соответствуют поставленным задачам, логичны и вытекают из результатов проведенных исследований. Объем проведенных экспериментов и полученный массив данных достаточны для получения достоверных показателей. Результаты получены с использованием адекватных современных методических подходов, подробно описанных в тексте диссертации. Основные итоги диссертационного исследования в полной мере отражены в опубликованных в международных рецензируемых изданиях, рекомендованных Перечнем ВАК (4 статьи в журналах "J Physiol Biochem", 2019 год; "Bull Exp Biol Med", 2019 и 2023 годы; "Physiol Rep",

2022 год) и обсуждались на научных заседаниях, включая XXIV съезд физиологического общества им.Павлова в 2023 году.

Общая характеристика работы

Диссертация А.С.Биличенко изложена на 178 машинописных страницах, построена по стандартному плану и включает: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение, заключение, выводы и список литературы, содержащий 283 источника. Материалы, представленные в каждой из этих частей, полностью соответствуют требуемому описанию. Работа проиллюстрирована 25 рисунками и 18 таблицами.

Во *введении* обсуждаются актуальность исследуемой темы, степень ее изученности, цели и задачи исследования, научная и практическая значимость работы и положения, предлагаемые для защиты.

Обзор литературы представлен основными сведениями о механоуправляемых каналах и механосенситивных токах в кардиомиоцитах и молекулярных механизмах влияния NO на параметры этих токов. Обзор литературы написан грамотным языком, с логическим представлением информации, которая дает возможность делать наиболее полное заключение о текущем положении проблемы в науке по выбранному направлению.

Раздел *«Материалы и методы»* подробно описывает методики, которые использовались при выполнении исследования и объясняет выбор подходов для решения поставленных задач.

Раздел *«Результаты и обсуждение»* содержит описание полученных результатов и включает 10 подразделов, в каждом из которых автор детально описывает итоги экспериментов, представляя соответствующие графики и табличные формы. После каждого подраздела с описанием экспериментальных групп одного направления есть подраздел с подробным обсуждением полученных итогов.

В разделе «**Заключение**» автор подводит итоги работы и демонстрирует значение оксида азота (NO) в регуляции механосенситивных токов и, следовательно, механоэлектрической обратной связи, которая занимает одно из главных мест в регуляции работы сердца.

По результатам диссертационной работы было сделано 6 выводов, и они соответствуют 7-ми поставленным задачам (результаты о влиянии ингибитора и активатора cGMP-зависимой протеинкиназы выделены в один пункт вывода).

При прочтении диссертации не возникает сомнений в высокой квалификации автора. Содержание автореферата соответствует содержанию диссертационного исследования. Диссертация и автореферат написаны хорошим научным языком. В целом, работа не вызывает замечаний по форме, содержанию и способу изложения материала.

Личный вклад автора в исследование

Автор участвовал в планировании и проведении экспериментов, в процессе анализа данных, в обобщении результатов и подготовке публикаций.

Замечания и вопросы по диссертации

Замечания:

1. В тексте имеются опечатки, неудачные выражения, англицизмы (вентрикулярные кардиомиоциты), в обзоре литературы в п 1.2.5 потенциал действия обозначен как AP, а не ПД.

2. В обзоре литературы на рисунки 1,2 нет ссылок в тексте и к рисунку 1 нет пояснения.

3. Для наглядного представления ключевых результатов целесообразно подготовить итоговую схему, отражающую исследуемые сигнальные пути NO и ключевые изменения в работе механоуправляемых ионных каналах и механосенситивных токах при отсутствии и наличии растяжения кардиомиоцита.

4. Среди списка опубликованных работ нет публикаций, в которых автор диссертационной работы был бы указан как первый автор. Также в указанных публикациях фигурирует по 6-9 соавторов, а личный вклад диссертантка указан как превалирующий, например, 5.66/4.8, как это возможно?

Вопросы:

1. В диссертации исследовали регуляцию активируемых растяжением ионных каналов кардиомиоцитов желудочков сердца крыс при локальном растяжении, использовался ли данный подход для анализа механосенситивных токов в кардиомиоцитах предсердий, которые играют ведущую роль в генерации сердечного ритма?

2. Насколько выбранная в исследовании величина растяжения бмкм соответствует степени растяжения кардиомиоцитов в естественных условиях, при нагрузках?

3. Поскольку механоуправляемые каналы кардиомиоцитов играют важную роль не только в работе здорового сердца, но, прежде всего, при патологических состояниях (вероятно при гипертензии, сердечной недостаточности, нарушениях ритма), которые часто сопровождаются перестройкой адренергической регуляции, могут ли другие сигнальные молекулы, помимо NO оказывать существенное влияние на работу механоуправляемых и механосенситивных каналов кардиомиоцитов в этих условиях?

Высказанные замечания не затрагивают сути проведенного исследования, а вопросы носят дискуссионный характер и не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы как квалификационного научного труда и не ставят под сомнение обоснованность ее основных положений и выводов.

Заключение

Диссертационная работа Андрея Сергеевича Биличенко на тему: «Влияние активации двух различных центров связывания растворимой гуанилатциклазы, реализующих NO-зависимый и NO-независимый механизмы, на регуляцию активируемых растяжением ионных каналов кардиомиоцитов желудочков сердца крыс», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченной научно-квалифицированной работой, в которой на основании проведенных автором исследований разработаны новые теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как значимое научное достижение. По актуальности, достоверности результатов, опубликованных в рецензируемых международных журналах, степени обоснованности научных положений и выводов, диссертационная работа Биличенко А.С. соответствует паспорту специальности 1.5.5 – «Физиология человека и животных» (по Биологическим наукам), отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода, а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова.

А соискатель Биличенко Андрей Сергеевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 – «Физиология человека и животных».

Официальный оппонент:

Кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО Казанского ГМУ Минздрава России

«16» октября 2023г.

Одношивкина Юлия Геннадьевна

Подпись <u>К.Э.И. С. Мустафин</u>
<u>Одношивкина Юлия Геннадьевна</u> заверяю.
Учёный секретарь Ученого Совета ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России.
д.м.н. <u>И.Г. Мустафин</u>
« 16 » октября 2023 г.

Сведения об официальном оппоненте:

Одношивкина Юлия Геннадьевна, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО Казанского ГМУ Минздрава России

Полное название организации: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Казанский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации

Сокращенное название организации: ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России

Почтовый адрес: 420012, Приволжский федеральный округ, Республика Татарстан, г.Казань, ул. Бутлерова, д.49

Телефон: 8 (843) 271-06-92

Сайт организации: <https://kazan-gmu.ru/>

E-mail: rector@kazan-gmu.ru

E-mail: kna@kazan-gmu.ru



Подпись *И.Г. Мустафин*, *с. преподаватель*
И.Г. Мустафин заверяю.
Учёный секретарь Учёного Совета ФГБОУ
ВО Казанский ГМУ Минздрава России,
д.м.н. *И.Г. Мустафин*
« 16 » октября 2023 г.