

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Бутовой Ксении Андреевны
на тему: «Механизмы сократительной дисфункции левого и правого
предсердий крыс при пароксизмальной фибрилляции предсердий
вегетативного генеза»
по специальности 1.5.5 – «Физиология человека и животных»

Актуальность избранной темы

Диссертационная работа Бутовой Ксении Андреевны посвящена комплексному исследованию механизмов ремоделирования сократительной функции предсердий при пароксизмальной фибрилляции предсердий. В виду распространённости и угрожающих жизни осложнений, фибрилляция предсердий представляет собой важную кардиологическую проблему. Ремоделирование электрофизиологической функции миокарда предсердий при суправентрикулярных нарушениях ритма на сегодняшний день изучено достаточно широко, однако особенностям нарушения механической активности миокарда уделено мало внимания. Также для анализа сократительной функции представляется важным оценивать характеристики левого и правого предсердий по отдельности, что значительно дополнит текущие знания о электромеханической неоднородности сердца. Таким образом, тема диссертации актуальна, а цель и задачи корректно отражают ключевой вопрос работы и пути его решения.

Структура и объём диссертации

Диссертация изложена на 155 страницах и построена по классическому плану. Диссертация начинается с раздела «введение», в котором дается краткое обоснование проблемы, ставятся цель и задачи исследования.

Далее следуют обзор литературы, описание материалов и методов, используемых в исследовании, описание результатов, их обсуждение,

заключение и выводы. Завершается диссертация списком цитируемых источников, который включает 240 наименований. Работа проиллюстрирована 37 рисунками, 2 таблицами, в работе приведены 5 формул.

Обзор литературы достаточно полно раскрывает известные к настоящему моменту сведения в исследуемой области: в обзоре литературы приведены данные о электромеханической гетерогенности наджелудочкового миокарда, рассмотрены основные механизмы регуляции электрической и механической активности предсердий, представлены сведения о тканевых и молекулярных причинах нарушения нормальной электрической и механической активности суправентрикулярного миокарда, механизмах предсердных тахикардий, а также перечислены характеристики основных экспериментальных моделей фибрилляции предсердий. В обзоре литературы рассмотрены работы как отечественных ученых, так и зарубежных научных групп. В обзоре литературы автор использует наиболее современные источники, касающиеся темы работы. Однако, автором также упоминаются классические, широко известные исследования из области электрофизиологии сердца. Обзор литературы позволяет заключить, что автор отлично ориентируется в исследуемой области физиологии, демонстрирует знание современного состояния проблемы.

Раздел «Материалы и методы» даёт детальное представление об экспериментальных подходах, используемых в данном исследовании. В разделе «материалы и методы» Бутова К.А., приводит описание групп животных, экспериментальной модели фибрилляции предсердий, а также описание способов изоляции кардиомиоцитов, способов регистрации механической активности кардиомиоцитов и тканевых препаратов в различных режимах нагружения, прочих примененных в работе методиках.

В разделе «результаты» приведено детальное описание полученных в работе данных. Раздел «результаты» содержит четыре части, касающиеся «межкамерных» особенностей механики предсердий у контрольных животных, животных, демонстрирующих пароксизмальную фибрилляцию

предсердий, а также части, касающиеся механизмов ремоделирования механической активности предсердий при фибрилляции предсердий. Результаты исследования представлены в форме, общепринятой для научной литературы.

В разделе «обсуждение» Бутовой К.А. проведен детальный анализ и интерпретация полученных результатов. Автор приводит несколько гипотез, которые, объясняют полученные в экспериментах феномены и, в частности, позволяют механистически связать пароксизмальную фибрилляцию предсердий с сократительной дисфункцией и усугубляющейся неоднородностью суправентрикулярного миокарда. Следует отметить, что результаты, полученные в данном исследовании, резюмированы в формате схем, что существенно облегчает восприятие большого объема результатов.

Раздел «заклучение» обобщает полученные в работе сведения. В заключении кратким образом продемонстрирована практическая значимость фундаментального исследования механической межкамерной гетерогенности предсердий.

Приведенные в конце работы выводы, сформулированы кратко, логично. Выводы, сделанные в работе, обоснованы, базируются на полученных автором данных экспериментов, соответствуют цели исследования и поставленным задачам.

Богатый иллюстративный материал в полном объеме раскрывает полученные экспериментальные результаты и основанные на них выводы.

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

Диссертационное исследование Бутовой К.А. обладает несомненной научной новизной. В работе Бутовой К.А. впервые выявлено несколько феноменов, касающихся сократимости, пассивных и активных механических свойств «здорового» предсердного миокарда, а также миокарда в условиях моделирования пароксизмальной формы фибрилляции предсердий. Автором

впервые исследовано влияние тахикардии на локальные механические свойства правого и левого предсердий. В своей работе, Бутова К.А. впервые установила потенциальные молекулярные механизмы, которые обуславливают действие тахикардии на сократительные свойства отдельных участков наджелудочкового миокарда.

Новым и значимым для физиологии сердца итогом работы Бутовой К.А. является получение сведений о степени механической неоднородности предсердий в норме. Обнаружено, что в норме предсердия не отличаются по характеристикам сокращения и силогенерации миокарда, хотя различны по характеристикам пассивного напряжения, что является неожиданным результатом, учитывая существующую концепцию о электрофизиологической неоднородности предсердного миокарда. Результаты диссертационного исследования Бутовой К.А. впервые позволяют сопоставить два типа неоднородности в предсердной миокардиальной ткани – электрофизиологическую и сократительно-механическую. Такое сопоставление, позволяет принципиально расширить представления о закономерностях функционирования миокарда как ткани.

Автором установлено, степень и характер перестроек, т.е. ремоделирования, вызванных пароксизмальной фибрилляцией, различен в правом и левом предсердии. На основе результатов Бутова К.А. впервые формулирует гипотезу о «камероспецифическом» влиянии тахикардии на пассивные и активные свойства предсердного миокарда. Автор впервые продемонстрировала, что индуцированные фибрилляцией межпредсердные различия в характеристиках сократительной функции проявляются на клеточном уровне, но, вероятно, частично компенсируются либо маскируются на уровне ткани. Автор также впервые показала, что механическая нагрузка может определять особенности сократительной дисфункции левого и правого предсердий и на основе полученных результатов сделала заключение о том, что большая дисфункция при пароксизмальных нарушениях ритма происходит в механически нагруженном правом предсердии.

Автор выносит на защиту положения, касающиеся однородности сократительных свойств предсердного миокарда в норме; касающиеся индукции механической гетерогенности, механического ремоделирования и сократительной дисфункции наджелудочкового миокарда при фибрилляции предсердий, выраженность которых специфична для миокарда правого и левого предсердий. Также Бутова К.А. выносит на защиту положения о молекулярных механизмах лежащих в основе наблюдаемых феноменов, включая тканеспецифическое фосфорилирование белков сократительного аппарата, гетерогенность продукции АФК.

Выносимые на защиту положения являются обоснованными, поскольку автором выполнен значительный объем экспериментов с использованием целого спектра методик. Автором проведен анализ на трёх уровнях организации миокарда – тканевом, клеточном и молекулярном. Многоуровневый подход обеспечил автору комплексную оценку функции миокарда. Именно комплексный подход позволил выявить область суправентрикулярного миокарда, наиболее чувствительную к ремоделирующему действию пароксизмальной фибрилляции предсердий, и определить условия, в которых эта дисфункция проявляется в наибольшей степени. Согласно существующей концепции, большей уязвимостью к последствиям суправентрикулярных нарушений ритма обладает левое предсердие. Автором показано, что в левом предсердии наблюдаются наибольшие изменения продукции активных форм кислорода, сдвиги уровней фосфорилирования белков саркомера, и также изменения характеристик динамики саркомеров, Автором установлено, что признаки структурного ремоделирования левопредсердного миокарда выражены в большей степени по сравнению с миокардом правого предсердия. Таким образом, выявленные феномены и гипотезы, предложенные в диссертационной работе, не противоречат текущим концепциям патогенеза аритмий, что служит дополнительным подтверждением обоснованности положений, выносимых автором на защиту.

Развитие тематики, разрабатываемой Бутовой К.А., может являться основой для продолжения исследования уже в рамках как прикладных, так и фундаментальных проектов лаборатории, в которой трудоустроен диссертант.

Теоретическая и практическая значимость работы

Работа Бутовой К.А. имеет как теоретическое, фундаментальное, так и прикладное значение. Фундаментальное значение работы заключается в том, что автором выявлены закономерности сократительной активности миокардиальной ткани предсердий. Теоретическая значимость работы определяется установлением ключевых особенностей тканевого распределения пассивных и активных механических свойств в наджелудочковой части сердца, связи этого распределения с аритмогенностью. Важным теоретическим достижением является установление автором того факта, что гетерогенность отдельных параметров механической активности между правым и левым предсердием увеличивается при фибрилляции предсердий, способствуя их дисфункции.

С прикладной точки зрения результаты работы Бутовой К.А. способствуют трансляции результатов экспериментальных исследований, разработке новых подходов предотвращения или терапии тахиаритмий.

Достоверность результатов исследования

Результаты исследования являются в высокой степени достоверными. Рассмотрение особенностей сократительной функции предсердий в норме и при индуцированной фибрилляции предсердий выполнено всесторонне.

Для решения поставленных задач автором применены адекватные, современные, общепризнанные методические подходы, включающие *in vivo* модель фибрилляции предсердий, методику карбоновых волокон для механического нагружения кардиомиоцитов, визуализацию кальциевой динамики в изолированных кардиомиоцитах, биохимические методы оценки продукции АФК, оксида азота и фосфорилирования белков сократительного

аппарата саркомеров. Автор использовал современное, специализированное научное оборудование.

Используемая в исследовании экспериментальная модель пароксизмальной фибрилляции предсердий является известной, хорошо описана в экспериментальных работах и достаточно убедительно воспроизводит симптоматику суправентрикулярных нарушений ритма.

Помимо биомеханических измерений, выполненных на клеточном и тканевом уровнях организации миокарда, в работе проведена гистологическая оценка структуры миокарда предсердий. Использованная совокупность методов позволила автору показать, что функциональные явления наблюдаемые в экспериментах коррелируют с структурными изменениями.

Объем проведенных экспериментов, размер выборок достаточен для получения статистической обработки. Схемы и протоколы экспериментов воспроизводимы. Индексы и параметры, рассчитываемые при анализе данных, однозначно характеризуют наблюдаемые феномены. Параметрические и непараметрические методы статистического анализа данных экспериментов подобраны корректно. Таким образом, статистическая значимость различий в группах, достоверность результатов и обоснованность выводов исследования не вызывает сомнений.

Оригинальность и состоятельность результатов полученных результатов подтверждается публикациями (5 работ, из них 4 статьи) в рецензируемых высокорейтинговых научных журналах, входящих в базы данных Web of Science и Scopus. Результаты исследования были широко представлены на всероссийских и международных научных конференциях, что, несомненно, позволило ознакомиться с ними научному сообществу и провести их экспертизу.

Замечания и вопросы по диссертации

Критических замечаний к работе нет. Текст диссертации изложен грамотно, понятным языком, несмотря на наличие некоторого количества пунктуационных ошибок и опечаток.

В порядке дискуссии хочу задать следующие вопросы, касающиеся методических подходов:

1. Почему время инкубации кардиомиоцитов с ацетилхолином (в блоке экспериментов по острому влиянию ацетилхолина) составляет 10 минут? Почему измерения в этих экспериментах выполнялись «в течение 3–5 минут после окончания инкубации»?

2. Для чего при изоляции многоклеточных препаратов применялся ингибитор АТФ-азы миозина 2,3-бутандион моноксим? Являлось ли это необходимым ввиду возможности возникновения необратимых изменений в сократительном аппарате мышцы и, как следствие, вероятности получения некорректных данных относительно силогенерирующей способности предсердий?

3. Почему для анализа зависимости «длина-активная сила» применялось уравнение линейной аппроксимации, а для кривых «длина-пассивная сила» – уравнение экспоненциального роста?

4. При анализе уровня фосфорилирования автором установлено, что уровень фосфорилирования тропонина Т (TnT) в правом предсердии сильно снижен по сравнению с уровнем в левом предсердии. Важно, что межпредсердное соотношение уровней фосфорилирования не меняется при фибрилляции предсердий. Чем может быть обусловлена «межпредсердная» разница в уровнях фосфорилирования? Может ли разница в уровнях фосфорилирования TnT оказывать влияние на пассивные и активные механические свойства предсердий?

Вышеперечисленные вопросы не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы и не ставят под сомнение обоснованность положений и выводов.

Заключение

Диссертационное исследование Бутовой К.А. направлено на исследование закономерностей физиологических процессов и функций системы кровообращения, сердца человека и животных в норме и

эксперименте. Работа Бутовой К.А. также направлена на изучение механизмов функционирования кардиомиоцитов, принципов организации миокардиальной ткани предсердий, особенностей перестройки предсердного миокарда при тахикардиях.

Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.5 – «Физиология человека и животных» по биологическим наукам, а именно направлению «Исследование закономерностей физиологических процессов и функций отдельных систем и органов организма человека и животных разных таксонов в норме и эксперименте», а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5, а также оформлена, согласно приложениям № 5, 6 Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова. Таким образом, соискатель Бутова Ксения Андреевна вполне заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. – «Физиология человека и животных».

Доцент кафедры физиологии
человека и животных Московского
государственного университета
имени М.В.Ломоносова, д.б.н.

Кузьмин Владислав Стефанович

22 апреля 2024