

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Ворониной Яны Алексеевны “Механизмы регуляции проведения возбуждения и ритма сердца, опосредованные пуриновыми P<sub>2</sub>-рецепторами и адренорецепторами альфа-типа”, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. – физиология человека и животных

Сердечно-сосудистые заболевания остаются одной из основных причин потери качества жизни и смертности в современном мире, что обуславливает высокий интерес к изучению функционирования сердца как в норме, так и в патологии. Согласно актуальным эпидемиологическим исследованиям до 5% населения развитых стран страдают от различных форм аритмии, среди которых наиболее распространенной является фибрилляция предсердий, сопряженная с повышенными рисками инсульта. По некоторым оценкам желудочковые аритмии лежат в основе 75-80% случаев внезапной сердечной смерти. Для более глубокого понимания обсуждаемых патологий, а также разработки методов их лечения и предотвращения необходимо проводить исследования функционирования проводящей системы сердца, в частности синоатриального и атриовентрикулярного узлов (САУ и АВУ). Очевидно, что составляющие их клетки обладают широким арсеналом рецепторов, улавливающих многочисленные сигнальные факторы и запускающих сложные биохимические каскады, которые координируют ионные токи, параметры возбудимости и метаболизм. Кандидатская диссертация Яны Алексеевны посвящена частным аспектам данного вопроса.

В рамках работы установлен разнонаправленный характер влияния активации  $\alpha$ 1-адренорецепторов в клетках проводящей системы сердца. Это позволяет предполагать, что физиологическая роль данных рецепторов состоит в поддержании работы САУ и его координации с АВУ в условиях высокой частоты сердечных сокращений. Кроме того, полученные данные свидетельствуют о роли хлорной проводимости в реализации наблюдаемых феноменов, что указывает на возможную роль хлорных каналов и катион-хлорных симпортеров в регуляции сердечного ритма. Наконец, проведенные эксперименты выявляют роль P<sub>2</sub>Y-рецепторов пуриновых котрансмиттеров в настройке пейсмекерной активности САУ и проведения импульса в АВУ. Так, АТФ, основной пуриновый медиатор симпатической нейротрансмиссии, оказывает сходные негативные хронотропные эффекты в обеих структурах. Не возникает сомнений, что полученные автором результаты представляют интерес как для фундаментальной, так и для практической физиологии, поскольку они дополняют наши представления о регуляции частоты сердечных сокращений и открывают новые направления исследований.

Хочется отметить, что работа выполнена на высоком методологическом уровне с использованием широкого арсенала современных подходов. В частности, автор задействует классические методы экспериментальной хирургии и физиологии, к которым относятся получение препаратов рабочего миокарда и различных отделов проводящей системы сердца, регистрация ЭКГ у наркотизированных крыс, а также оценка функции проводящей системы в изолированном сердце. Упомянутые подходы сочетаются с биохимическими и молекулярно-генетическими техниками (иммуногистохимия, ПЦР в реальном времени и РНК-секвенирование). Наконец, в работе представлен ряд методов оптической визуализации метаболических процессов (микроскопия с потенциал-зависимым зондом di-4-ANNEPS и репортером концентрации хлорид-анионов MQAE).

Достоверность полученных автором данных не вызывает сомнений. Все они были обработаны адекватными статистическими методами и опубликованы в 4 рецензируемых изданиях (в том числе, в международных). Тем не менее, у меня возник ряд замечаний и вопросов по представленному автореферату.

1. В случае меркуриметрического метода измерения внутриклеточной концентрации хлорид-анионов нет ли опасений, что в ходе перфузии тканей сульфатом магния аналит может вымываться из цитозоля за счет присутствия мембранных каналов или других факторов?

2. В случае t-теста осуществляла ли автор предварительное сравнение дисперсий тестируемых выборок? Соответственно, применяли ли поправку Уэлча?

3. Автор пишет: "Характер флуоресцентных сигналов указывает на локализацию  $\alpha 1$ -АР именно в пейсмекерных кардиомиоцитах." На мой взгляд, для такого заключения необходимо проводить ко-локализацию тестируемого маркера с некоторым маркером-стандартом. Кроме того, автор не обсуждает, являлись ли используемые антитела высокоселективными по отношению к  $\alpha 1$ -АР.

4. Подписи к рисункам в автореферате содержат большое количество опечаток. Например, для рисунков 1, 4 и 8 перепутаны буквы, соответствующие панелям.

5. В случае рисунка 3Г не совсем понятно, как автор применяла парный критерий Стьюдента, если в контроле смещения быть не должно (соответственно, значение представляет собой константу и равно нулю).

6. В некоторых случаях автор использует исключительно методы измерения концентрации РНК для проверки гипотезы о наличии тех или иных белков в тканях (например, для Р2-рецепторов или хлорных каналов). Однако, не всегда наличие РНК говорит о высокой эффективности трансляции. Почему было принято решение не визуализировать присутствие белка?

7. В тексте автореферата присутствуют опечатки, при этом некоторые из них существенно изменяют смысл текста. Например, автор пишет: "Агонист Р2У12 и Р2У13 АДФ и агонист Р2У6-рецепторов УДФ не приводят к статистически значимому изменению ЧСС у крыс *in vivo* ( $p < 0.05$ ,  $n = 6$ )". В данном случае знак "<" перепутан со знаком ">". В другом месте автор пишет: "В данной работе впервые показано, что уменьшение объёма клетки при снижении осмолярности внешней среды приводит к снижению частоты генерации спонтанных ПД в САУ". Действительно ли снижение осмолярности среды приводит к уменьшению объема клетки?

8. Почему для части точек на рисунке 7Б отсутствуют планки погрешностей?

9. Тот факт, что воздействие NPPV направлено воздействию ФЭ, не доказывает то, что активация  $\alpha 1$ -АР осуществляется путем модуляции метаболизма хлорид-анионов. Это могут быть два процесса, которые вносят независимый вклад в общую динамику. Если же говорить про то, что сигнал MQAE падает в клетках САУ, обработанных ФЭ, нет ли вероятности, что это результат выгорания красителя в ходе съемки? В автореферате не представлена контрольная съемка без воздействия агента.

10. Автор пишет, что изменение осмолярности окружающей среды приводит к активации катион-хлорного котранспортера КСС1. Однако, в тексте автореферата я не смог найти эксперимент, где это было бы показано напрямую.

11. На рисунке 9А отсутствует подпись оси абсцисс.

12. Автор применяет фармакологический подход для оценки роли TMEM16A и LRRC8A в регуляции исследуемых феноменов. Однако, использованные вещества не являются высокоселективными в отношении данных белков. Например, DCPIB способен воздействовать на ряд калиевых каналов. Кроме того, ингибирование VRAC не всегда

оказывает эффекты через влияние на хлорную проводимость, поскольку через эти каналы мигрируют и другие соединения (сорбитол, таурин, глутамат). Что же касается NBPP, то для этого вещества показано воздействие на разные группы хлорных каналов (не только кальций-зависимые). Например, к ним относятся CFTR и VRAC.

В целом, высказанные замечания не влияют на высокий научный уровень представленной работы и носят дискуссионный характер. Считаю, что работа Вороной Яны Алексеевны “Механизмы регуляции проведения возбуждения и ритма сердца, опосредованные пуриновыми P2-рецепторами и адренорецепторами альфа-типа” полностью соответствует требованиям “Положения о присуждении ученых степеней”, утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 года (в актуальной редакции), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. – физиология человека и животных.

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник,  
руководитель группы метаболических основ патологии  
Института биоорганической химии  
им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН

Билан Дмитрий Сергеевич

17.12.2024