

**ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Джуманиязовой Ирины Хамрабековны
на тему: «Механизмы токсического воздействия трициклических
полиароматических углеводородов на электрическую активность
сердца»
по специальности 1.5.5. Физиология человека и животных**

Актуальность выбранной темы. Полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) относятся к наиболее распространённым и одновременно наиболее опасным загрязнителям Мирового океана. Они поступают в окружающую среду как при хронических технологических утечках, так и при авариях на нефтедобывающих и транспортных объектах, а также в результате горения органических материалов. Особую тревогу вызывает ситуация в Арктической зоне Российской Федерации, где в связи с активным освоением Северного морского пути, наращиванием темпов разведки и добычи углеводородов, а также с потеплением климата и угрозой высвобождения загрязнителей, накопленных в многолетней мерзлоте, прогнозируется рост уровня нефтяного загрязнения. В этих условиях особенно уязвимыми оказываются stenothermic арктические виды рыб, играющие ключевую роль в пищевых цепях северных морей и имеющие существенное промысловое значение. Помимо экологической составляющей, трициклические ПАУ представляют непосредственную опасность и для здоровья человека – как вследствие употребления в пищу морепродуктов, в тканях которых они накапливаются, так и в результате вдыхания пылевых частиц пирогенного происхождения.

Несмотря на значительное число работ, посвящённых токсикологии ПАУ в целом, к моменту начала исследования И.Х.Джуманиязовой систематические сведения о влиянии ПАУ и водорастворимой фракции нефти на электрофизиологические параметры миокарда арктических видов рыб практически отсутствовали; имеющиеся данные были получены главным

образом на тропических видах и радужной форели. Для млекопитающих сведения об эффектах трициклических ПАУ на уровне отдельных ионных токов кардиомиоцитов ограничивались единственной работой на желудочковых миоцитах овцы, а данные об их действии на основные лабораторные объекты – грызунов – и на человеческие изоформы порообразующих субъединиц ионных каналов сердца отсутствовали. Идентификация непосредственных молекулярных мишеней кардиотоксического действия ПАУ в миокарде, оценка видоспецифичности этих эффектов и роли физиологического состояния организма (в частности, сезонной температурной акклиматизации) в их выраженности представляют собой актуальную фундаментальную задачу современной сравнительной физиологии и электрофизиологии сердца. В связи с этим выбор темы диссертационной работы И.Х.Джуманиязовой следует признать исключительно актуальным – как с фундаментальных, так и с прикладных позиций (экологический мониторинг северных морей, оценка рисков промышленных проектов в Арктической зоне, вопросы кардиотоксикологии у человека).

Степень обоснованности положений, выносимых на защиту. По результатам проведенной работы диссертантом были сформированы три положения, выносимых на защиту. Все положения подтверждены описанными в работе экспериментальными исследованиями. Особо интересным оказывается второе положение, поскольку оно указывает на изменение чувствительности электрической активности желудочковых кардиомиоцитов наваги к экотоксикантам, в частности, к компоненту нефти 3-метилфенантрону, при сезонной акклиматизации животных. Это указывает на важность проведения экотоксикологических исследований с учетом условий акклиматизации рыб.

Степень обоснованности научных выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. В работе для реализации поставленной цели было сформулировано 7 задач, которые были успешно реализованы в ходе исследования. Представленные в конце работы выводы соответствуют задачам и явно следуют из представленных результатов.

Достоверность полученных в работе данных не вызывает сомнений. Результаты получены с применением современных и адекватных поставленным задачам методов электрофизиологии и клеточной биологии. Статистический анализ проведён корректно, с использованием адекватных критериев и специализированного программного обеспечения (GraphPad Prism). Выбор параметров, описывающих дозозависимые эффекты исследованных соединений, полностью соответствует современным стандартам исследований такого типа.

Новизна.

Научная новизна работы заключается в комплексном сравнительном электрофизиологическом анализе действия водорастворимой нефтяной фракции (ВРФ) и отдельных трициклических полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) на нативных кардиомиоцитах северной наваги и мышей, а также на отдельных порообразующих субъединицах ионных каналов сердца человека ($K_v11.1$ и $Na_v1.5$) в гетерологической системе СНО-K1. Это позволило разграничить эффекты смеси и индивидуальных соединений, а также выявить роль сезонной акклиматизации в изменении чувствительности. В частности, раскрыт механизм негативного воздействия фенантрена, 3-метилфенантрена и ВРФ нефти на электрическую активность желудочковых кардиомиоцитов наваги, где ток I_{Kr} оказался наиболее чувствительным, приводя к замедлению реполяризации; впервые показано усиление токсичности 3-метилфенантрена при зимней акклиматизации наваги с повышением чувствительности I_{Kr} и сезонными различиями в I_{Na} , что

расширяет физиологический контекст оценки экотоксикантов за счет связи с ремоделированием миокарда у эктотермных животных. Кроме того, установлено, что фенантрен и 3-метилфенантрен в микромолярных концентрациях подавляют реполяризующие токи I_{to} и I_{Kur} в кардиомиоцитах мышей, увеличивая длительность потенциала действия и замедляя деполяризацию, причем 3-метилфенантрен более эффективен; наконец, I_{hERG} (через $K_{v11.1}$) чувствителен к 3-метилфенантрону с изменением параметров активации/инактивации и деактивации, в отличие от I_{hSCN5A} (через $Na_v1.5$), что подчеркивает роль вспомогательных белков и клеточного окружения в модификации свойств каналов и их чувствительности к загрязнителям.

Структура диссертационного исследования. Диссертация построена по классической схеме: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение, заключение, выводы и список литературы.

Обзор литературы (глава 2) свидетельствует о прекрасной ориентации диссертанта в современном состоянии рассматриваемых вопросов. Раздел последовательно освещает структуру, классификацию и источники ПАУ, их распределение в биосфере и механизмы биodeградации. Отдельные подразделы посвящены электрофизиологическим особенностям желудочковых кардиомиоцитов различных позвоночных (костистых рыб, человека, мыши) с описанием основных ионных токов и порообразующих субъединиц. Завершается обзор разделом о физиологических эффектах ПАУ, включая канцерогенность и нарушения эмбриогенеза рыб. Обзор грамотно структурирован и полноценно готовит читателя к восприятию экспериментальной части.

Методическая часть (глава 3) производит благоприятное впечатление. Диссертант использует широкий набор современных методов: энзиматическое выделение желудочковых кардиомиоцитов северной наваги (*Eleginus nawaga*) и мыши (*Mus musculus*), регистрацию потенциалов действия и ионных токов

методом пэтч-кламп в конфигурации whole-cell с использованием обширного репертуара протоколов и селективных блокаторов, а также работу с гетерологической экспрессионной системой CHO-K1, трансфицированной плазмидами, кодирующими порообразующие субъединицы человеческих каналов Kv11.1 (hERG) и Nav1.5 (SCN5A). Такое сочетание методов является сильной стороной работы.

Раздел «Результаты» (глава 4) изложен логично и чётко. На модели желудочковых кардиомиоцитов наваги, акклиматизированной к летним условиям, впервые показано, что водорастворимая фракция нефти марки Urals вызывает дозозависимое увеличение длительности потенциала действия без значимых изменений потенциала покоя и амплитуды ПД. Наиболее чувствительным к ВРФ оказывается I_{Kr} ($IC_{50}=3,15\%$), тогда как $I_{Ca,L}$ и I_{Na} проявляют меньшую чувствительность.

Охарактеризованы эффекты индивидуальных трициклических ПАУ – фенантрена и 3-метилфенантрена. Установлено, что 3-метилфенантрен является существенно более эффективным блокатором I_{Kr} ($IC_{50}\sim 500$ нМ) и I_{Na} , чем фенантрен, что связывается с дополнительными взаимодействиями метильной группы с аминокислотами внутренней полости поры и селективного фильтра канала. Совокупность данных демонстрирует, что 3-метилфенантрен обладает наиболее выраженным проаритмогенным потенциалом среди исследованных соединений.

Принципиально новым является раздел о роли сезонной акклиматизации наваги в формировании чувствительности миокарда к ПАУ. Впервые показано, что зимняя акклиматизация сопровождается ремоделированием электрофизиологического фенотипа кардиомиоцитов (укорочение ПД, увеличение плотности I_{Kr} , сдвиги кривых активации и инактивации I_{Na} , снижение плотности $I_{Ca,L}$) и существенно изменяет чувствительность к экотоксикантам. IC_{50} для 3-метилфенантрена в отношении I_{Kr} зимой

составляет ~ 50 нМ – на порядок ниже летнего значения (~ 500 нМ). Этот результат связывает выраженность эффектов экотоксиканта с физиологическим состоянием организма и открывает новую перспективу в понимании сезонной уязвимости арктических рыб к нефтяному загрязнению.

Впервые охарактеризованы эффекты фенантрена и 3-метилфенантрена на кардиомиоциты мышцы. Оба соединения в микромолярных концентрациях подавляют реполяризующие токи I_{to} и I_{Kur} , а также снижают амплитуду I_{Na} ; 3-метилфенантрен оказывается более эффективным ингибитором. Убедительно продемонстрировано, что миокард млекопитающих существенно более устойчив к трициклическим ПАУ, чем миокард арктических рыб.

Важным новым результатом является серия экспериментов на системе СНО-K1 с человеческими изоформами Kv11.1 и Nav1.5. I_{hERG} чувствителен к 3-метилфенантрону ($IC_{50}=38,2$ μ М), причём наблюдаются сдвиги активации (влево) и инактивации (вправо), а также ускорение деактивации, увеличивающие «оконный» ток. Напротив, I_{hSCN5A} не чувствителен к 3-метилфенантрону, несмотря на ингибирование I_{Na} в нативных кардиомиоцитах мышцы. Этот результат подчёркивает определяющую роль клеточного окружения и регуляторных субъединиц в формировании чувствительности токов к экотоксикантам – аспект, нередко упускаемый при интерпретации данных гетерологических систем.

По диссертации возник ряд вопросов и замечаний

1. В работе приведены подробные IC_{50} для 3-метилфенантрена в отношении I_{Kr} наваги (~ 500 нМ у летних рыб; ~ 50 нМ – у зимних), I_{hERG} в гетерологической системе СНО-K1 (38,2 μ М). Разница между IC_{50} для I_{Kr} рыбы и I_{hERG} составляет 2–3 порядка. Насколько обоснованно, с точки зрения автора, связывать эту разницу исключительно с различиями в структуре порового участка канала, и какова, по мнению диссертанта, относительная

роль липидного состава плазматической мембраны, вспомогательных субъединиц и состава гетеротетрамеров в формировании этой разницы? Возможно ли приблизить результаты, полученные на гетерологической системе СНО-K1, к нативной ситуации путём коэкспрессии вспомогательных субъединиц?

2. В диссертации детально исследованы острые эффекты фенантрена, 3-метилфенантрена и ВРФ нефти (5–10 минут перфузии). Между тем в реальных условиях обитания арктические виды рыб подвергаются хроническому воздействию низких, но устойчивых концентраций ПАУ. В какой степени выявленные ею IC_{50} применимы для прогнозирования последствий длительного воздействия, и планирует ли она в дальнейшем провести соответствующие эксперименты с более продолжительной инкубацией?

3. Согласно результатам, 3-метилфенантрен не влияет на амплитуду кальциевого тока L-типа желудочковых кардиомиоцитов северной наваги и мыши, но при этом увеличивает скорость инактивации этого тока. Как такие изменения $I_{Ca,L}$ на фоне увеличивающейся длительности потенциала действия повлияют на общую кальциевую динамику желудочковых кардиомиоцитов?

Заключение.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. 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 также критериям, определённым пп. 2.1–2.5 Положения о присуждении учёных степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова. Диссертационное исследование оформлено согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук, на соискание учёной степени

доктора наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Джуманиязова Ирина Хамрабековна заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 Физиология человека и животных.

Официальный оппонент:

Кандидат биологических наук,
Старший научный сотрудник
Лаборатории молекулярно-клеточной
диагностики ГБУЗ МО МОНИКИ
им. М.Ф. Владимирского,

Фролова Шейда Рауф кызы

23.04.2026

Контактные данные:

тел.: , e-mail:

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:
03.01.02 Биофизика

Адрес места работы:

ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского: 129110, г. Москва, ул.
Щепкина, д.6 1/2

Тел.: e-mail:

Подпись к.б.н., старшего научного сотрудника Фроловой Ш.Р.
удостоверяю:

Специалист по коррекциям
Черникова В.