

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Ивановой Александры Дмитриевны
на тему: «Механизмы преобразования пейсмекерных свойств миокарда
полых вен в постнатальном онтогенезе»
по специальности 1.5.5 – «Физиология человека и животных»

Диссертационная работа Ивановой А.Д. посвящена изучению изменений электрофизиологических свойств миокарда полых вен у крыс от рождения до полового созревания и роли симпатической иннервации в этих процессах.

Актуальность работы

Кардиомиоциты миокардиальных рукавов крупных торакальных вен привлекают внимание исследователей, так как особенности миокарда торакальных вен обуславливают участие этой ткани в реализации наджелудочковых форм аритмий. Исследованию миокарда легочных вен, его аритмогенных свойств посвящено достаточно много работ, в то время как свойства миокарда полых вен изучены гораздо хуже. Иванова А.Д. в своей работе изучила неизвестные до этого закономерности постнатального преобразования электрофизиологических свойств миокарда полых вен, происходящих из эмбрионального венозного синуса. Общее происхождение миокарда верхних полых вен и кардиомиоцитов синоатриального узла указывает на принципиальную возможность сохранения свойств пейсмекерных клеток у кардиомиоцитов миокардиальных рукавов полых вен. Это, в свою очередь, определяет возможность возникновения аритмий вследствие формирования эктопических очагов и реализации механизма re-entry. Таким образом, исследование Ивановой А.Д. вносит вклад в представления о врожденных предрасположенностях организма к реализации предсердных аритмий.

Научная новизна

В диссертационном исследовании Ивановой А.Д. впервые описана динамика изменений электрофизиологических характеристик миокарда правой поллой вены крысы после рождения, показано созревание кардиомиоцитов миокардиальных рукавов полых вен, которое характеризуется переходом от состояния, близкого к пейсмекерным клеткам, к электрофизиологическому состоянию, промежуточному по отношению к пейсмекерным и рабочим кардиомиоцитам. Обнаруженные закономерности в изменении характеристик вызванных потенциалов и спонтанной электрической активности дополнены исследованием динамики экспрессии белков, определяющих фенотип клетки – калиевых каналов HCN4 и Kir2, коннексина Cx43 и фактора транскрипции Nkx2-5.

В работе Ивановой А.Д. впервые изучены некоторые аспекты адренергической регуляции кардиомиоцитов миокардиальных рукавов полых вен – такие, как экспрессия и локализация α_{1A} -адренорецепторов, изменение способности к спонтанной электрической активности при воздействии на α - и β -адренорецепторы. Также впервые продемонстрирована значимость симпатической иннервации для созревания миокарда полых вен, смещения их фенотипа в сторону рабочего миокарда предсердий и предотвращения спонтанной активности в миокарде полых вен.

Научно-практическая значимость

Результаты данной работы являются значимыми для фундаментальной науки, так как расширяют представление о механизмах, приводящих к формированию и компактизации основного водителя ритма сердца, его локализации на уровне синоатриального узла. Диссертационная работа Ивановой А.Д. формирует представление о миокардиальной ткани полых вен как о не вполне зрелом миокарде, не до конца подвергающемся атриализации и склонном к гетерогенности электрической активности. Это представление является важным с практической точки зрения, так как может послужить основой для изучения врожденных предрасположенностей для реализации

наджелудочковых аритмий, в том числе – фибрилляции предсердий. Результаты, полученные в данной работе, указывают на большое значение адекватной симпатической иннервации для контроля аритмогенной активности миокардиальных рукавов полых вен.

Степень обоснованности и достоверности выводов и основных положений диссертации

Исследование Ивановой А.Д. грамотно и тщательно спланировано. Для обоснования выбора мишеней исследования проведены дополнительные эксперименты, не вошедшие в диссертационную работу – оценен уровень экспрессии подтипов калиевых каналов Kir2 и ток I_{K1} в правой полый вене крыс. Подробно описаны гистологические особенности кардиомиоцитов полый вены, выбранной в качестве объекта исследования, и родственных ей структур правого предсердия, симпатической иннервации полый вены; доказана эффективность проводимой химической десимпатизации.

Обсуждение каждого аспекта, оцененного в электрофизиологической части исследования - особенностей вызванных потенциалов, мембранного потенциала покоя, характеристик спонтанной электрической активности, выполнено совместно с результатами гистологических и молекулярно-биологических экспериментов, произведенных с использованием современных иммуногистохимических методов и методом обратной транскрипции- полимеразной цепной реакции в реальном времени. То есть, наблюдаемые особенности электрофизиологического статуса обосновываются факторами клеточной физиологии и цитологии. К обсуждению собственных результатов привлечено множество современных публикаций авторов, исследования которых связаны с вопросами организации миокарда с пейсмекерной активностью и миокардиальных рукавов. Таким образом, выводы и основные положения диссертации экспериментально обоснованы, а результаты, полученные Ивановой А.Д., однозначно интегрированы в массив современных представлений об

особенностях развития миокарда торакальных вен и являются важной частью этих представлений.

Общая характеристика работы

Текст и иллюстративный материал диссертационной работы Ивановой А.Д. представлен на 163-х страницах. Работа оформлена традиционным образом и включает в себя следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение, заключение, выводы и список литературы. Во введении автор логично обосновывает актуальность собственного исследования, формирует цель и задачи.

Обзор литературы освещает современные представления об эмбриогенезе, особенностях строения и биоэлектрических свойствах миокарда полых вен; о структуре адренергической регуляции миокарда, экспрессии и локализации адренергических рецепторов, развитии симпатической иннервации в сердце. В обзоре литературы также представлены данные о клеточной физиологии пейсмекерных кардиомиоцитов, даны основные представления о механизмах возникновения фибрилляции предсердий.

В главе "Материалы и методы" описаны физиологические, гистологические и молекулярно-биологические методы, использованные в работе. В том числе, детально описана препаровка объектов исследования, условия регистрации биоэлектрической активности кардиомиоцитов с помощью микроэлектродов, метод оптического картирования распространения потенциалов действия. Представлен протокол используемых гистохимических и иммуногистохимических методов, описаны методы анализа конфокальных изображений, а также описан используемый протокол для обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в реальном времени.

В главе "Результаты исследования" детально описаны результаты экспериментов. Раздел очень хорошо иллюстрирован рисунками оригинальных записей, графиками, таблицами, фотографиями

гистологических препаратов и конфокальными изображениями (всего в разделе размещены 38 рисунков). В главе обсуждения результатов рассмотрены закономерности формирования определенного электрофизиологического статуса кардиомиоцитов правой поллой вены крыс при наличии адекватной симпатической иннервации и в ее отсутствие. Параметры электрической активности обсуждены с использованием полученных данных относительно экспрессии и локализации белков, характерных для рабочего миокарда или пейсмекерных клеток.

Заключение и выводы соответствуют полученным в исследовании результатам.

Критические замечания и вопросы по диссертации

В то же время, к тексту диссертации можно сделать несколько критических замечаний:

- Автор называет группы крыс, не подвергшихся десимпатизации, "контрольными". В то же время, часть результатов касается только крыс, не подвергшихся десимпатизации - подробное гистологическое описание миокардиальной ткани правой поллой вены, постнатальная динамика формирования симпатической иннервации правой поллой вены, оценка экспрессии и локализации коннексина Cx43. Таким образом, уместнее эти группы крыс обозначить как "интактные", так как они не всегда выполняют роль групп сравнения.

- Как было отмечено ранее, работа хорошо иллюстрирована и снабжена большим количеством таблиц, однако в разделе "Результаты исследования" данные таблиц дублируют данные, представленные графически. Кроме этого, в конце разделов, посвященных электрофизиологическим исследованиям интактных и десимпатизированных животных, помещены дополнительно сводные таблицы, которые в данной главе представляются излишними. Сводные таблицы лучше было разместить в главе "Обсуждение", что сделало бы прочтение этой главы более удобным.

- По объективным причинам, в электрофизиологической части исследования, а именно, при оценке встречаемости спонтанной электрической активности в миокардиальных рукавах, среди десимпатизированных крыс находятся две крайне малочисленные группы (2 и 3 животных). Тем не менее, автор и в этих группах провела частотный анализ встречаемости спонтанной электрической активности, и данные по этим группам, выраженные в процентах, представлены на графиках и используются в обсуждении. Использование числового подхода в малочисленных группах представляется преждевременным; единственный обоснованный вывод для этих групп может быть только качественным - о том, что имеются препараты и с наличием, и с отсутствием спонтанной электрической активности.

- В тексте есть некоторое количество опечаток, а также не вполне точных формулировок, которые затрудняют прочтение работы. Так, автор использует слово "значительный" и в смысле действительно существенных различий между группами, и в смысле любого по выраженности отличия, когда было получено доказательство наличия статистической значимости.

Кроме этого, возник вопрос относительно возможной практической, в клиническом плане, значимости исследования. Так как известен большой список факторов, способствующих электрическому ремоделингу миокарда и формированию наджелудочковых аритмий, приобретаемых в зрелом и пожилом возрасте, от перенесенного инфаркта миокарда до почечной недостаточности, - насколько правомерно в контексте данного исследования рассматривать как возможную "целевую группу", на которую ориентировано исследование, взрослых пациентов с фибрилляцией предсердий?

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

