

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Пустовит Ксении Борисовны
на тему: «Эффекты и механизмы действия диаденозиновых
полифосфатов и их производных в сердце млекопитающих»
по специальности 03.03.01 – «Физиология»

Общая характеристика работы

Работа К. Б. Пустовит выполнена на кафедре физиологии человека и животных биологического факультета Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова. Диссертация изложена на 178 страницах машинописного текста по традиционному плану, состоит из разделов: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение, заключение, выводы, список сокращений и условных обозначений, список литературы. Результаты диссертационного исследования опубликованы в 12 статьях в изданиях, индексируемых в базе данных Web of Science или Scopus. Материалы работы апробированы на крупных международных и всероссийских научных форумах.

Актуальность избранной темы

Диссертационная работа К. Б. Пустовит посвящена изучению влияния на сердце диаденозиновых полифосфатов. Данные вещества образуются естественным путем в клетках и способны выполнять функции сигнальных молекул. Подробная характеристика ранее неизвестных сигнальных путей расширяет знания о регуляции физиологических функций, дает новые возможности для управления этими функциями, показывает неизвестные ранее уязвимые точки, от которых могут начать развиваться патологические процессы. Потенциальные мишени изучаемых в работе мессенджеров – пуриновые рецепторы и связанные с ними внутриклеточные сигнальные каскады изучены меньше по сравнению с другими подобными системами. Влияние этих веществ на электрофизиологические свойства миокарда

практически не были исследованы. Эффекты диаденозиновых полифосфатов могут возникать в естественных условиях. В частности, очень важным может быть их выделение активированными тромбоцитами в ходе развития инфаркта миокарда. Также эти вещества могут быть использованы в фармакотерапии. В связи с этим, работа К. Б. Пустовит представляет большой интерес.

Степень обоснованности научных положений и выводов

В диссертационной работе К. Б. Пустовит действие диаденозиновых полифосфатов изучено на нескольких функциональных уровнях и с помощью различных современных методов исследования. Сократительная активность исследована на изолированном сердце с помощью регистрации внутрижелудочкового давления, динамика внутриклеточного кальция в кардиомиоцитах – с помощью т.н. кальциевого флуоресцентного имиджинга, трансмембранные потенциалы действия записаны с использованием классической микроэлектродной техники, ионные токи кардиомиоцитов изучены методом whole-cell patch clamp. Роль внутриклеточных сигнальных путей оценена при помощи фармакологического блокирования их отдельных звеньев. Исследованы разные участки сердца – синоатриальный узел, предсердный миокард, волокна Пуркинье, желудочковый миокард и коронарные артерии. Все результаты согласуются друг с другом и в целом представляют собой убедительный и полный анализ кардиотропной активности диаденозиновых полифосфатов: лиганд – рецептор – внутриклеточные сигнальные пути – электрофизиологические свойства – баланс кальция – сокращение. В связи с вышеизложенным, считаю, что выводы диссертационной работы К. Б. Пустовит полностью обоснованы.

Достоверность положений диссертации

Работу отличает грамотный дизайн. Схема подачи изучаемых веществ в целом позволяет предложить однозначную трактовку полученных результатов. Протокол экспериментов подробно описан (раздел 3.3.3). В работе используются грамотные статистические методы, автору удалось

избежать типичных и, к сожалению, очень распространенных ошибок в статистическом анализе – К. Б. Пустовит справедливо использует непараметрические критерии для сравнения выборок небольшого объема и применяет поправки для множественных сравнений. Отмечу, что используемая поправка Бонферони является наиболее строгой, поэтому заключения, сделанные на основе такого анализа можно считать вполне надежными. Материалы диссертации прошли процедуру рецензирования и опубликованы в отечественных и международных журналах.

Новизна

В диссертации К. Б. Пустовит всесторонне исследовано действие диаденозиновых полифосфатов и НАД⁺ на сердце крысы. Помимо этого, часть данных получена на сердце морской свинки и кролика. Показаны важные различия в механизмах действия диаденозиновых полифосфатов в сердце крыс и морских свинок – животных, кардинально различающихся электрофизиологическими характеристиками миокарда в целом. В работе, в частности, установлено, что диаденозиновые полифосфаты осуществляют свой эффект в сердце крысы через P2Y рецепторы и сигнальный путь, связанный с протеинкиназой C, а в сердце морской свинки – через P1-рецепторы и ацетилхолинзависимый калиевый ток. Впервые показано уменьшение длительности потенциалов действия кардиомиоцитов под влиянием изучаемых веществ, установлено их влияние на амплитуду внутриклеточных «кальциевых волн» и сократительную активность. Выявлены интересные особенности реакции на диаденозиновые полифосфаты межпредсердной перегородки (отличные от реакций остального предсердного миокарда).

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость данной работы заключается, прежде всего, в том, что в работе охарактеризован полный путь управления физиологической функцией от лиганда (диаденозиновые полифосфаты и НАД⁺) до конечной функции (развиваемое давление изолированного сердца).

Практическая значимость связана с описанием электрофизиологических эффектов изучаемых веществ, которые встречаются в естественных условиях и потенциально могут служить основой для создания новых кардиотропных препаратов. Данные эффекты могут быть как анти- так и проаритмическими. Принимая во внимание тот факт, что источником диаденозиновых полифосфатов могут служить активированные тромбоциты, полученные данные могут служить основой для понимания связи – двусторонней, – как показывают современные исследования, между тромбообразованием в полостях сердца и возникновением фибрилляции предсердий.

Замечания и вопросы по работе

В целом, работа К.Б.Пустовит производит очень хорошее впечатление. Указанные ниже замечания касаются, в основном, формулировок и стиля изложения.

1. В работе термин «сократимость» используется слишком широко. Для измерения сократимости надо было бы тем или иным образом учитывать преднагрузку (например, с помощью построения зависимости Франка-Старлинга). Правильнее было бы термин «сократимость» заменить на «насосная функция» или «сократительная активность» сердца. Надо признать, что такая неточность формулировки не сказывается на трактовке результатов исследования.

2. Считаю неудачным построение некоторых рисунков, когда статистическая значимость различий между несколькими группами изображается одним символом (например, рис. 4.21).

Кроме того, имеется несколько дискуссионных вопросов.

1. Чем обусловлены выявленные в работе функциональные отличия межпредсердной перегородки от остального предсердного миокарда?

2. Какие основания имелись для изучения роли каскада оксида азота в реализации эффектов диаденозиновых полифосфатов?

3. Имеется ли какое-либо функциональное значение различий сигнальных каскадов, обеспечивающих эффекты диаденозиновых полифосфатов в сердце крысы и морской свинки? В частности, связаны ли они с электрофизиологическими особенностями миокарда этих животных?

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 паспорту специальности 03.03.01 – «Физиология» (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена, согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Пустовит Ксения Борисовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – «Физиология».

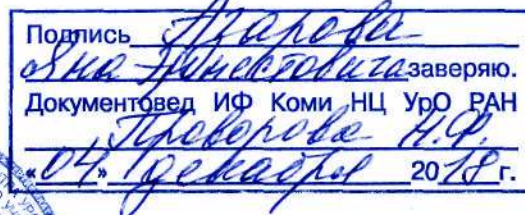
Официальный оппонент:

доктор биологических наук,
ГЛАВНЫЙ НАУЧНЫЙ СОТРУДНИК
лаборатории физиологии сердца
Института физиологии Коми научного центра Уральского отделения
Российской академии наук Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Федеральный исследовательский центр «Коми научный
центр Уральского отделения Российской академии наук»

АЗАРОВ Ян Эрнестович

04.12.2018

Я. Азаров



Контактные данные:

тел.:

Специальность, по которой официальным оппонентом

защищена диссертация:

03.03.01 – Физиология

Адрес места работы:

167982, (Республика Коми) г. Сыктывкар, ул.Первомайская, д. 50,
Институт физиологии Коми научного центра Уральского отделения
Российской академии наук, ФИЦ КОМИ НЦ УрО РАН, лаборатория
физиологии сердца

Тел.: (8212)240085; e-mail: office@physiol.komisc.ru