

**Отзыв официального оппонента Хапчаева Аскера Юсуфовича
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Селивановой Екатерины
Константиновны
на тему: «Механизмы влияния тиреоидных гормонов на артерии крыс»
по специальности 03.03.01 – «Физиология»**

Актуальность и новизна работы

Исследование представляется актуальным, учитывая возрастающую в популяции частоту нарушений тиреоидного статуса, что может сопровождаться нарушениями со стороны сердечно-сосудистой системы. При этом как геномное, так и негеномное действие тиреоидных гормонов на кровеносные сосуды и артериальное давление остаются малоизученными.

В работе впервые изучены механизмы регуляции экспрессии 5'-дейодиназы D2 в резистивных артериях крыс и показано, что гипертиреоз и хроническая десимпатизация, но не хроническое подавление синтеза оксида азота приводят к подавлению уровня мРНК D2 в артериях скелетных мышц крысы. Также впервые продемонстрировано, зависимый от D2 синтез трийодотиронина (Т3) вносит вклад в поддержание вазомоторного действия NO. При исследовании механизмов негеномного влияния тиреоидных гормонов на тонус артерий скелетных мышц впервые разделены механизмы действия Т3 и тироксина (Т4). Так, влияние Т3 выражено слабее и опосредуется эндотелием, тогда как эффект Т4 реализуется на уровне гладкой мышцы. Наконец, впервые идентифицированы участники сигнального каскада, активность которых модулируется в результате негеномного вазодилатационного действия Т4: интегрин $\alpha\upsilon\beta_3$, протеинкиназы ERK1/2 и протеинкиназа ILK.

Полученные в работе результаты расширяют имеющиеся представления о геномном действии тиреоидных гормонов на сосуды и о механизмах негеномного влияния Т3 и Т4 на резистивные артерии. Понимание механизмов тиреоидной регуляции сердечно-сосудистой системы способствует пониманию патологических процессов, протекающих при тиреоидных нарушениях, и их связи с развитием сердечно-сосудистых заболеваний. В этой связи полученные данные могут найти применение при разработке новых фармакологических подходов.

Общая характеристика исследования

Диссертационная работа Селивановой Е. К. представляет собой хорошо продуманное актуальное исследование, выполненное на высоком методическом уровне. Полученные в работе результаты и сделанные выводы не вызывают существенных вопросов. Результаты работы полностью соответствуют поставленным задачам и корректно отражены в сделанных выводах. Научная значимость результатов и достоверность выводов не вызывают сомнений.

Структура работы

Диссертационная работа Селивановой Е. К. построена по традиционной схеме и состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение результатов, заключение, выводы, список сокращений и список цитированной литературы. Работа изложена на 154 страницах, содержит 38 иллюстраций, 8 таблиц и 312 цитируемых источника. Представленная информация прекрасно классифицирована и организована, обеспечивая понимание текущего состояния разработанности проблемы, обоснованности поставленных задач, надежности полученных результатов и правомерности выносимых на защиту

выводов. По результатам работы опубликовано 5 статей и 2 тезиса докладов в профильных журналах, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ.03.06 по специальности физиология 03.03.01, а также 3 статьи в сборниках статей и 3 тезиса докладов в сборниках материалов научных конференций.

Введение кратко описывает актуальность и степень разработанности темы исследования, формулирует цель и задачи работы, отмечает новизну, теоретическую и практическую значимость работы, кратко описывает использованные в работе методологию и методы, формулирует выносимые на защиту положения, приводит данные об апробации результатов, публикациях и личном вкладе автора.

Обзор литературы хорошо подготавливает читателя по вопросам метаболизма тиреоидных гормонов и механизмов их геномного и негеномного действия, а также связи между тиреоидными нарушениями и функционированием сердечно-сосудистой системы.

Работа Селивановой Е. К. выполнена с применением современных методических подходов, таких как моделирование нарушений (модель гипертиреоза у крыс, модель нарушения иннервации (десимпатизация) и модель эндотелиальной дисфункции (модуляция уровня оксида азота)) *in vivo*, а также культивирование изолированных сосудов с целью исключения системных влияний и оценки прямого действия тиреоидных гормонов на ткани сосуда. В работе использованы методы физиологии в части измерения сократительной активности изолированных сосудов, методы молекулярной биологии и биохимии, в том числе иммунохимии, в части оценки влияния тиреоидных гормонов на уровень экспрессии генов (мРНК и белки) и активность внутриклеточных сигнальных каскадов.

В разделе «Результаты» приведены данные по исследованию механизмов регуляции экспрессии дейодиназы 2 типа (D2) в артериях *in vivo*,

а именно: влияние хронического гипертиреоза, хронической неонатальной десимпатизации и хронического подавления синтеза оксида азота. Описаны результаты исследования функциональной роли D2 с использованием культивируемых артерий, а именно: влияние культивирования и влияние ингибитора D2 на изменение экспрессии D2, генов-мишеней геномного действия тиреоидных гормонов и генов, регулирующих продукцию оксида азота, а также влияния на сократительные ответы артерий, в том числе опосредованные эндотелием. Наконец, описаны результаты исследования быстрых негеномных эффектов тиреоидных гормонов на артерии икроножной мышцы, включая сравнение эффектов трийодотиронина и тироксина, исследование роли эндотелия, интегрина $\alpha V\beta 3$, миозина, кальций-зависимых каналов большой проводимости, протеинкиназ ERK1/2, ILK, Src, ROCK, Akt и фосфатазы MLCP. Раздел хорошо структурирован и иллюстрирован. Все результаты описаны достаточно подробно и четко.

Раздел «Обсуждение» содержит анализ собственных результатов и их сопоставление с данными других авторов. Этот раздел также отличается высокой структурированностью изложения и содержит обсуждение всех полученных данных.

В Заключении автор кратко суммирует результаты и новизну работы по проведенному комплексному исследованию различных аспектов тиреоидной регуляции резистивных артерий, обозначает научную и потенциальную практическую значимость полученных результатов.

Комментарии по работе

В диссертационной работе Селивановой Е.К. встречается незначительное количество опечаток, которые, однако, очевидны и не осложняют восприятие текста. В качестве наиболее значимой опечатки можно

указать на несоответствие нумерации сигнальных процессов на Рис. 2 их полному описанию в подписи к рисунку.

К несущественным стилистическим замечаниям можно отнести:

1) не везде в тексте диссертации автор, говоря об экспрессии генов, четко указывает, идет ли речь об мРНК или о белковом продукте;

2) несмотря на обоснованный результатами вывод автора о том, что тироксин нарушает сигнал, идущий через интегрин $\alpha V\beta 3$, в работе встречаются фразы об иницируемых тироксином сигнальных процессах при реализации негеномного расслабления артерий. Здесь, по-видимому, срабатывает распространенное клише о том, что гормон должен запускать какой-то сигнальный процесс.

В отношении примененных в работе методических подходов возникает два комментария и одно пожелание:

- 1) При оценке эффектов ингибиторов автор использовал диметилсульфоксид (ДМСО) в качестве растворителя. Существуют данные о том, что повышенные концентрации ДМСО могут влиять на активность внутриклеточных сигнальных каскадов. В этой связи для большей надежности полученных данных и большего приближения модельной системы к условиям, существующим в интактных сосудах, было бы полезно включить в рассмотрение еще одну контрольную группу артерий без добавки как ингибиторов, так и растворителя.
- 2) Ингибиторный анализ с использованием йопаноевой кислоты (IOP, ингибитор D2) показал, что D2 может участвовать в поддержании уровня NO, так как ингибитор синтеза NO L-NNA перестает влиять на сократительную активность артерий после инкубации с IOP. При этом автор обнаружил понижение уровня мРНК индуцибельной NO-синтазы (iNOS) в присутствии IOP. На мой взгляд, интересным дополнением могла бы стать серия экспериментов с использованием избирательного ингибитора iNOS, например

L-NIL. Вклад iNOS можно было бы оценить в экспериментах по влиянию ингибитора iNOS влиять на сократительную активность артерий.

- 3) Наконец, следует отметить, что автору повезло с обнаруженной корреляцией между понижением уровня монофосфорилирования регуляторных легких цепей (РЛЦ) миозина в иммуноблоттинге и расслаблением артерии. Теоретически, на фоне расслабления артерии уровень монофосфо-РЛЦ мог остаться без изменений за счет их образования из дифосфорилированной формы РЛЦ, к которым данные антитела нечувствительны. Принятие во внимание такой возможности можно указать в качестве пожелания на будущую экспериментальную работу.

Заключение

Диссертационная работа Селивановой Е.К. представляет собой комплексное научное исследование, обладающее фундаментальной значимостью и новизной. Результаты исследования убедительны, достоверны и значимы для специалистов в области физиологии, эндокринологии и кардиологии. Выводы и заключения по работе полностью обоснованы. Автореферат полно и корректно передает содержание диссертационной работы и оформлен надлежащим образом. Принципиальные возражения по работе отсутствуют. Высказанные замечания носят дискуссионный и рекомендательный характер и 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 Селиванова Екатерина Константиновна вполне заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – «Физиология».

Официальный оппонент:

ФИО: Хапчаев Аскер Юсуфович

Должность, звание: старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, ученого звания нет

Место и адрес работы: Институт экспериментальной кардиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Минздрава России, 121552, Москва, ул. 3-я Черепковская, д. 15, литера А

Тел.:

Электронная почта:

Специальность, по которой защищена диссертация оппонентом:
03.01.04 – «Биохимия»

01 ноября 2021 г.



А. Ю. Хапчаев

Подпись к.б.н. А.Ю. Хапчаева заверяю:

д.б.н., ученый секретарь Института

экспериментальной кардиологии

ФГБУ «НМИЦ кардиологии»

Минздрава России



О.С. Плеханова

02 ноября 2021 г