

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Тапилиной Светланы Владимировны «Участие мускариновых рецепторов третьего типа в опосредовании холинергической регуляции сердца млекопитающих», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 - физиология

Диссертация Тапилиной Светланы Владимировны «Участие мускариновых рецепторов третьего типа в опосредовании холинергической регуляции сердца млекопитающих» посвящена изучению участия мускариновых рецепторов 3-го типа (M3) в опосредовании холинергической регуляции электрической активности миокарда млекопитающих (мыши и крысы) на различных стадиях онтогенеза. Парасимпатическая регуляция сердечной деятельности чрезвычайно важна для нормального функционирования сердец млекопитающих. Помимо регуляции работы миокарда в норме, недавние исследования стали указывать на кардиопротекторную роль парасимпатической системы в условиях развития сердечных патологий различного генеза. Парасимпатическая регуляция работы сердца осуществляется через мускариновые рецепторы, пять типов которых обнаружены в сердечной мышце. Помимо рецепторов 2-ого типа, преобладающих в миокарде, наибольший интерес для исследователей представляют M3-рецепторы, чье непосредственное участие в реализации кардиопротекторных свойств парасимпатической системы было доказано в последние десятилетия. Изучение детальных механизмов парасимпатической регуляции сердца, связанных с M3-рецепторами, является важной и актуальной задачей современной физиологии.

В соответствии с целью работы автором диссертационной работы были поставлены и решены 7 задач исследования. Использование в качестве модельного объекта мыши позволило автору наблюдать эффекты избирательной стимуляции M3-рецепторов в синоатриальном узле. Помимо взрослых животных в работе автор использовал также миокард новорожденных и трехнедельных крысят для исследования роли M3-рецепторов в ходе постнатального развития. Поскольку, исходя из литературных данных, именно в этот период у грызунов происходит созревание парасимпатической системы сердца.

Также стоит отметить широкий спектр методик (регистрация электрической активности миокарда при помощи микроэлектродной техники, иммуногистохимическое окрашивание, полимеразная цепная реакция в реальном времени, пэтч-кламп в конфигурации whole-cell), которыми автору пришлось овладеть для реализации поставленных задач.

Автором показано не только наличие МЗ-рецепторов в миокарде мыши и крысы, но также приведены доказательства их функциональной значимости как у взрослых, так и у новорожденных животных. Выявление различий в физиологическом ответе при избирательной стимуляции в желудочковом миокарде новорожденных и взрослых животных, может свидетельствовать о важных изменениях в регуляции работы сердца в ходе онтогенеза. Кроме того, соискателем показано, что при активации МЗ-рецепторов задействуется фосфоинозитидный каскад внутриклеточной сигнализации, участвует протеинкиназа С, а также ингибируется кальциевый ток L-типа. В диссертационной работе Тапилиной С.В. обстоятельно и доказательно раскрываются исходные научно-теоретические положения, определяющие позицию автора диссертации. В автореферате анализируются полученные эмпирические данные, подтверждающие основные положения, выносимые на защиту диссертационной работы. Достоверность, полученных результатов подтверждена грамотным статистическим анализом. Полученные в ходе выполнения работы данные расширяют наши представления о механизмах парасимпатической регуляции миокарда.

Материалы диссертационного исследования Тапилиной Светланы Владимировны опубликованы в четырех статьях, две из которых изданы в высокорейтинговых зарубежных журналах. Кроме того результаты исследования неоднократно докладывались на конференциях российского и международного масштаба.

На основании изложенного считаю, что диссертационная работа Тапилиной С.В. является завершенным диссертационным исследованием и соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней ВАК Российской Федерации» и автор настоящего исследования заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук.

Зав. кафедрой физиологии человека и животных

Казанского Федерального университета,

Профессор, д.б.н.

Ситдикова Г.Ф.

Кафедра физиологии человека и животных,

Институт Фундаментальной медицины и биологии,

ФГАОУ ВПО "Казанский (Приволжский) федеральный университет",

420008 Казань, Кремлевская 18

Телефон: +7(8432) 33-78-44

E-mail: guzel.sitdikova@kpfu.ru



ОТЗЫВ

**на автореферат диссертации С.В. Тапилиной
«Участие мускариновых рецепторов третьего типа в опосредовании холинергической
регуляции сердца млекопитающих»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 03.03.01 – физиология**

Изучение механизмов функционирования сердца является одним из классических направлений в физиологии с момента ее зарождения и по настоящий день. При этом, несмотря на титанические усилия, прилагаемые исследователями со всего мира, ряд аспектов в науке о сердце все еще остаются нераскрытыми, в том числе и молекулярные механизмы работы сердечной ткани. В этой связи, диссертационная работа С.В. Тапилиной, посвященная выявлению и изучению ранее неизвестного рецепторного механизма парасимпатической регуляции сердца, представляется весьма актуальной, а полученные результаты имеют несомненную значимость для современной физиологии.

Работа выполнена на препаратах сердца мыши и крысы с использованием внушительного для кандидатской диссертации набора методов исследования. Это и электрофизиология, включающая в себя классическую регистрацию внутриклеточного потенциала, и метод пэтч-клампа на изолированных кардиомиоцитах, и иммуногистохимия с применением конфокальной микроскопии, молекулярно-генетический подход (ПЦР), использование широкого спектра фармакологии, и наконец, работа на сердце животных, находящихся на разных стадиях онтогенеза. Используя вышеперечисленные методы, С.В. Тапилина выполнила большой объем экспериментальной работы и провела тщательный анализ полученных данных, успешно решив все поставленные перед ней задачи.

В ходе выполнения данного исследования автору удалось: (i) получить данные, доказывающие наличие мРНК М3-холинорецепторов в предсердном и желудочковом миокарде млекопитающих; (ii) показать особенности распределения уже синтезированного рецептора в сердечной ткани; (iii) продемонстрировать физиологический эффект активации этих рецепторов; (iv) определить молекулярный механизм, запускаемый при стимуляции М3-холинорецепторов. Немаловажными представляются и данные, демонстрирующие изменения экспрессии гена М3-холинорецепторов и изменения в реализации физиологического эффекта при стимуляции данных рецепторов в процессе онтогенеза.

Автореферат написан хорошим научным языком, легко читается, основные результаты прекрасно проиллюстрированы рисунками. Работа завершается четырьмя

лаконичными выводами, полностью соответствующими материалам диссертации. Тот факт, что результаты этого исследования нашли свое отражение в 4 статьях в авторитетных физиологических журналах (включая такие международные издания как *Pflugers Archive* и *The Journal of Experimental Biology*), в очередной раз подчеркивает актуальность и высокую значимость полученных данных.

Вышеизложенное позволяет заключить, что работа «Участие мускариновых рецепторов третьего типа в опосредовании холинергической регуляции сердца млекопитающих» полностью отвечает требованиям ВАК Минобразования РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013г. №842), а ее автор Тапилина Светлана Владимировна, несомненно, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 - физиология.

Ведущий научный сотрудник лаборатории биофизики
синаптических процессов Казанского института
биохимии и биофизики РАН,
доктор биологических наук, профессор

 Э.А. Бухараева

Старший научный сотрудник лаборатории биофизики
синаптических процессов Казанского института
биохимии и биофизики РАН,
кандидат биологических наук

 А.И. Маломуж

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Казанский институт биохимии и биофизики
Казанского научного центра Российской
академии наук (КИББ КазНЦ РАН)
Адрес: ул. Лобачевского 2/31, 420111, г. Казань
Телефон: (843) 292-73-47; факс: (843) 292-73-47
Адрес электронной почты: kibmail@mail.knc.ru

2 марта 2015 г.



 Э.А. Бухараевой Э.А. Маломужа А.И. завершено.
См. документооборот: Лог (Лалимбаева И.И.)

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Тапилиной Светланы Владимировны
**«Участие мускариновых рецепторов третьего типа в опосредовании
холинергической регуляции сердца млекопитающих»**,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук
«Специальность 03.03.01 - физиология»

Исследование Тапилиной С.В. посвящено поиску и доказательству функциональной активности мускариновых рецепторов третьего типа в миокарде млекопитающих. До недавнего времени считалось, что действие ацетилхолина, основного медиатора постганглионарных парасимпатических волокон, осуществляется в миокарде через мускариновые рецепторы второго типа. Однако обширный круг работ показал наличие и других типов мускариновых рецепторов в миокарде. Также показано, что кардиопротекторное действие парасимпатических воздействий связано именно с мускариновыми рецепторами третьего типа. В тоже время наличие и физиологическая роль М3-рецепторов в сердце таких важных лабораторных объектов, как мышь и крыса, до сих пор оставались практически не изученными. Работа Тапилиной С.В. направлена исследование роли мускариновых рецепторов третьего типа в регуляции работы сердца.

В своей работе соискатель использовала несколько методик (микроэлектродная техника, иммуногистохимическое окрашивание, полимеразная цепная реакция в реальном времени, пэтч-кламп в конфигурации whole-cell), требующих высокого профессионализма. Именно сочетание нескольких методик позволило автору полно раскрыть тему диссертационной работы. Автор при помощи современных электрофизиологических методик показал функциональную активность М3-рецепторов в рабочем миокарде животных, в области синоатриального узла мыши. Кроме того, Тапилиной С.В. удалось установить возможные пути реализации эффектов, наблюдаемых при избирательной активации М3-рецепторов в миокарде.

С помощью иммуногистохимических и молекулярно-биологических методов показано наличие рецепторов третьего типа в предсердном миокарде и желудочковом миокарде крысы и мыши. Во всех этих типах миокарда обнаруживается мРНК М3-холинорецепторов. Интересные данные получены на новорожденных животных. Соискателю удалось установить, что количество мускариновых рецепторов третьего типа (М3) и их соотношение с холинорецепторами второго (М2) типа меняется в ходе постнатального развития. По данным РВ-ПЦР М3-рецепторы (по количеству мРНК) составляют около 0,7% от количества М2-рецепторов в сердце новорожденного крысенка. В предсердиях трехнедельных животных М3-рецепторы составляют только 0,23%, а взрослых 0,15% относительно количества М2-рецепторов.

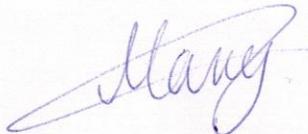
Поставленные в работе цель, задачи, научные положения и выводы являются корректными и обоснованными. Объем проведенных исследований, использование современных методов исследования и грамотная обработка полученных данных делает несомненной достоверность представленных результатов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Диссертационная работа Тапилиной С.В. «Участие мускариновых рецепторов третьего типа в опосредовании холинергической регуляции сердца млекопитающих», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук является актуальным законченным фундаментальным исследованием. Научная ценность и новизна работы состоит в том, что соискатель показал наличие и функциональную значимость мускариновых рецепторов третьего типа в различных отделах сердца млекопитающих, возможное изменение соотношения мускариновых рецепторов в ходе онтогенеза, выявил значимость М3-рецепторов в регуляции работы сердца именно в раннем постнатальном периоде. После знакомства с авторефератом и публикациями соискателя считаю, что работа Тапилиной Светланы Владимировны по своей научной новизне, теоретической и практической значимости, степени обоснованности положений, выносимых на защиту, а также выводов, соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней ВАК Российской Федерации».

Старший научный сотрудник

ФГБУН НИИ Физико-химической медицины

ФМБА России, к.б.н.

 Манувера В.А.

Подпись
и
Подпись
Кадров
Вашинский А.А. 



Отзыв
на автореферат диссертации
Тапилиной Светланы Владимировны
**«УЧАСТИЕ МУСКАРИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ ТРЕТЬЕГО ТИПА В
ОПОСРЕДОВАНИИ ХОЛИНЕРГИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ СЕРДЦА
МЛЕКОПИТАЮЩИХ»**, представленной на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология

Выполненная работа показывает роль МЗ-холинорецепторов в регуляции электрической активности кардиомиоцитов грызунов. Обнаружено воздействие специфичной активации МЗ-рецепторов на медленную диастолическую деполяризацию в клетках синоатриального узла и продолжительность потенциала действия в клетках рабочего миокарда. Показано, что существенный вклад в эффекты активации МЗ-рецепторов принадлежит фосфолипазе С и протеинкиназе С. Исходя из данных работы, одним из белков-мишеней зависимой от МЗ-рецепторов сигнализации может быть кальциевый канал L типа. В работе содержатся сведения об изменении экспрессии МЗ-рецепторов в ходе онтогенеза, указывающие на постепенное снижение вклада этих рецепторов в регуляцию с течением возраста. По данным представленной работы с участием соискателя вышли статьи в журналах, рекомендуемых ВАК. В целом работа оставляет очень приятное впечатление и отличается методическим комплексным подходом.

Анализ автореферата и публикаций Тапилиной Светланы Владимировны позволяет сделать заключение о высоком уровне диссертационной работы и ее соответствии требованиям п.7 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», предъявляемым к кандидатским диссертациям. Автор заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук.

Заведующий кафедрой нормальной физиологии

Казанского государственного медицинского университета,

Чл.-корр. РАН, профессор *С.М.Н.*

А.Л. Зефиоров
А.Л. Зефиоров

Доцент кафедры нормальной физиологии

К.б.н.

А.М. Петров
А.М. Петров



Подпись *А.М. Петров*
Удостоверяю
Специалист по кадрам
« 24 » 03 2015 г.