

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по постдипломному и
дополнительному образованию

ГБОУ ВПО РНИМУ

им. Н.И. Пирогова

Минздрава России



Л.О. Никитина

Гербовая печать

«26» февраля 2015 г.

Отзыв

ведущей организации

о научной и практической значимости 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.

Актуальность работы

Диссертационная работа Тапилиной Светланы Владимировны посвящена исследованию наличия и функциональной значимости мускариновых рецепторов третьего типа в сердце млекопитающих.

Сердечно-сосудистая система находится под постоянным контролем со стороны автономной нервной системы. Влияние парасимпатической системы на работу сердца безусловно является крайне важным. В последнее время появилось множество данных, говорящих о кардиопротекторном действии парасимпатической регуляции. Парасимпатические влияния на миокард

осуществляются через метаботропные мускариновые рецепторы. Наибольший интерес из всех типов мускариновых рецепторов, обнаруженных в миокарде, представляют рецепторы третьего типа. МЗ-рецепторы, как было показано, могут участвовать в реализации парасимпатических влияний на сердце не только в норме, но и в условиях различных сердечных патологий опосредовать кардиопротекторное действие. Поскольку сердечно-сосудистые заболевания в последние десятилетия являются одной из главных причин смертности в нашей стране, изучение мускариновой регуляции сердечной деятельности представляется актуальным, перспективным и востребованным направлением физиологии. Цели исследования обоснованы. Содержание диссертационной работы соответствует специальности физиология - 03.03.01.

Научная новизна и практическая значимость

В работе впервые при помощи нескольких независимых методов показаны наличие и функциональная значимость мускариновых рецепторов третьего типа в различных отделах сердца лабораторных грызунов мыши и крысы. Следует также отметить, что впервые продемонстрировано наличие МЗ-рецепторов в области синоатриального узла.

Кроме того, в работе раскрыты возможные механизмы эффектов избирательной стимуляции МЗ-рецепторов. Автор предоставляет убедительные свидетельства участия фосфоинозитидного каскада внутриклеточной сигнализации в реализации данных эффектов, в частности важную сигнальную роль играет протеинкиназа C, фосфорилирующая различные ионные каналы, в т.ч. кальциевый ток L-типа.

Также в работе Тапилиной С.В. впервые показано изменение рецепторного механизма реализации холинергических влияний в сердце в ходе онтогенеза.

Данные полученные в ходе выполнения диссертационной работы значительно дополняют наши представления о механизмах реализации холинергических влияний в сердце. С практической точки зрения данная работа также представляет немалый интерес, поскольку МЗ-рецепторы и звенья каскада внутриклеточной сигнализации на данный момент являются

перспективными мишенями для различных фармакологических агентов. Однако, наличие и функциональная значимость этого типа мускариновых рецепторов в миокарде наиболее популярных лабораторных животных, мыши и крысы, до сих пор оставались невыясненными. Исходя из всего сказанного, работа Тапилиной Светланы Владимировны является востребованной как в практическом, так и в теоретическом плане.

Результаты работы существенно меняют представления о механизмах парасимпатической регуляции миокарда и могут быть применены в будущем для исследования способов реализации кардиопротекторного действия ацетилхолина.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа Тапилиной С.В. построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, описания методов, объектов и материалов исследования, изложения и обсуждения результатов, выводов, списка цитируемой литературы. Работа изложена на 168 страницах, проиллюстрирована 67 рисунками и 7 таблицами. Список литературы включает 252 источника.

В обзоре литературы и в обсуждении автор продемонстрировал хорошее знание литературы и умение пользоваться ею при анализе собственных результатов. Задачи исследования поставлены согласно целям исследования, а результаты соответствуют задачам. Выводы обоснованы и вытекают из экспериментального материала.

Также стоит отметить, что работа выполнена на высоком методическом уровне. Для всестороннего раскрытия проблемы автор воспользовался несколькими независимыми методами обнаружения и исследования физиологической значимости мускариновых рецепторов третьего типа в миокарде. В работе использовано несколько современных методов, такие как иммуногистохимическое окрашивание препаратов миокарда при помощи меченых антител и полимеразная цепная реакция в реальном времени. Кроме того, для изучения эффектов избирательной стимуляции M3-рецепторов автор

воспользовался классическим методом микроэлектродной регистрации потенциала действия, а также методом пэтч-кламп в конфигурации whole-cell, которым в России владеют лишь несколько исследователей среди специализирующихся в области физиологии сердца.

В работе показано присутствие мускариновых рецепторов третьего типа в синоатриальном узле мыши, а также рабочем предсердном и желудочковом миокарде крысы и мыши. Выбор двух видов экспериментальных животных позволил автору изучить влияние избирательной стимуляции МЗ-рецепторов не только на рабочий миокард, но также и на область синоатриального узла, поскольку именно у мыши пейсмекер хорошо доступен для микроэлектродной регистрации. Данные, полученные при помощи различных методик, достаточно хорошо коррелируют между собой, что позволяет с уверенностью говорить о наличии и функциональной значимости мускариновых рецепторов третьего типа в миокарде крысы и мыши. В результате исследований внутриклеточных каскадов сигнализаций было показано, что при активации МЗ-рецепторов в сердце запускается фосфоинозитидный каскад и далее протеинкиназа С, что в конечном итоге приводит к снижению амплитуды кальциевого тока L-типа. Также крайне интересные результаты получены при изучении становления рецепторного аппарата сердечной мышцы в ходе онтогенеза. Так автором было показано, что в желудочках новорожденных крысят не только уровень экспрессии генов МЗ-рецепторов значительно выше, чем у взрослых животных, но и эффект избирательной стимуляции МЗ-рецепторов превосходит таковой у взрослых крыс более, чем в 3 раза.

Работа ставит ряд задач для дальнейших исследований. Представляется интересным продолжение изучения и экспериментальное подтверждение вопроса о физиологической роли МЗ-рецепторов в организме на ранних этапах онтогенеза. Кроме того, крайне важным является рассмотрение вероятной кардиопротекторной роли МЗ-рецепторов во время послеродового стресса у новорожденных.

Диссертационная работа Галицкой С.В. является актуальным и завершённым научным исследованием, соответствует всем требованиям.

Достоверность научных результатов диссертации не вызывает сомнений, поскольку они базируются на большом объеме экспериментального материала. Всего в работе было использовано 160 крыс (взрослые животные – 108, новорожденные – 26, трехнедельные крысята – 26), а также 117 белых беспородных мышей. В работе применялись современные способы получения и обработки физиологических данных.

Публикация результатов

Автореферат, 5 тезисов и 4 статьи, опубликованные по материалам диссертации, из которых 2 статьи опубликованы в престижных международных журналах, достаточно полно отражают основные результаты диссертации.

Замечания и вопросы.

В целом, диссертация и автореферат Тапилиной С.В. заслуживают высокой оценки, и принципиальных замечаний по работе нет. В порядке дискуссии хотелось бы задать следующие вопросы и указать на замечания:

- 1) С чем может быть связано различие в распределении МЗ-рецепторов в сердечной ткани грызунов и человека?
- 2) Известно, что протеинкиназа С модулирует работу не только IP₃ рецепторов, но и рианодиновых рецепторов (RyR) в различных тканях. Известно ли что-нибудь о вовлечении рианодиновых рецепторов в реализацию наблюдаемых вами эффектов стимуляции МЗ рецепторов в сердце?

В работе имеются также отдельные неисправленные опечатки. Сделанные замечания не являются принципиальными и не снижают ценности диссертационной работы.

Заключение

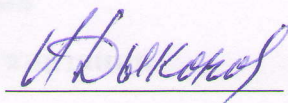
Диссертационная работа Тапилиной С.В. является актуальным и завершенным научным исследованием, соответствует всем требованиям,

предъявляемым ВАК к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук как по оригинальности, новизне, научному уровню, так и по значимости и актуальности полученных результатов, а сам автор Тапилина Светлана Владимировна заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании кафедры физиологии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова 5 февраля 2015 г.

Профессор кафедры физиологии
ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова
Минздрава России доктор медицинских
наук, профессор


ПОДПИСЬ ЗАВЕРЯЮ
Ученый секретарь ГБОУ ВПО РНИМУ
им. Н.И. Пирогова Минздрава России
"06" 02 2015 г.

 Дьяконова И.Н.

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
117997, г. Москва, ул.Островитянова, дом 1
E-mail: rsmu@rsmu.ru
Тел.: 8-495-434-03-29

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
**«РОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.И.ПИРОГОВА»**
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздрав России)
117997, Москва, ул. Островитянова, д.1
Тел.: (095) 434-0329 Факс: (495) 434- 0329, 434-6129 E-mail: rsmu@rsmu.ru

Сведения о ведущей организации
по диссертационной работе Тапилиной Светланы Владимировны на тему «Участие
мускариновых рецепторов третьего типа в опосредовании холинергической регуляции
сердца млекопитающих».
В диссертационный совет Д 501.001.93 при биологическом факультете МГУ
имени М.В. Ломоносова
(119991, г. Москва, Ленинские горы, д.1, стр. 12)
в аттестационное дело Тапилиной С.В.

Полное название организации в соответствии с Уставом	Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Сокращенное название организации	ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России
Фамилия Имя Отчество, ученая степень, ученое звание руководителя организации	Камкин Андрей Глебович, доктор медицинских наук, профессор
Фамилия Имя Отчество, ученая степень, ученое звание, должность сотрудника, составившего отзыв ведущей организации	Дьяконова Ирина Николаевна, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры физиологии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России.
Адрес ведущей организации	117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1
Телефон	8-495-434-03-29
E-mail	rsmu@rsmu.ru
Web-сайт	rsmu.ru
Список основных публикаций сотрудников за последние 5 лет	1. А. Г. Камкин, Е. Ю. Макаренко. - Механоуправляемые каналы клеток сердца и их регуляция цитокинами // Успехи физиологических наук. - 2012 - Т. 43, № 4. - С. 3-44 2. Казанский В.Е., Камкин А.Г., Макаренко Е.Ю., Лысенко Н.Н., Сутягин П.В., Киселева И.С. Роль оксида азота в регуляции активности

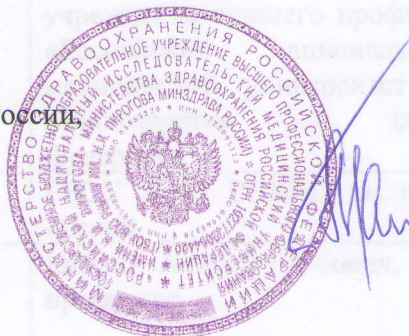
	механосенситивных ионных каналов кардиомиоцитов: исследование вклада NO-синтазы // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2010 - Том 150, N 8. - С. 228-232 3. Kamkin A, Kirischuk S, Kiseleva I. Single mechanogated channels activated by mechanical deformation of acutely isolated cardiac fibroblasts from rats. - 2010 - Acta Physiol (Oxf) - V. 199(3) - P. 277-292 4. Yanni J, Tellez JO, Sutyagin PV, Boyett MR, Dobrzynski H. Structural remodelling of the sinoatrial node in obese old rats. - 2010 - J Mol Cell Cardiol. - V. 48(4) - P. 653-662 5. Tellez JO, Mczewski M, Yanni J, Sutyagin P, Mackiewicz U, Atkinson A, Inada S, Beresewicz A, Billeter R, Dobrzynski H, Boyett MR. Ageing-dependent remodelling of ion channel and Ca²⁺ clock genes underlying sino-atrial node pacemaking. - Exp Physiol. - 2011 - V. 96(11) - P. 1163-78. 6. Kamkin A, Kiseleva I, Theres H, Eulert-Grehn JJ, Wagner KD, Scholz H, Vetter R. Enhanced L-type calcium currents in cardiomyocytes from transgenic rats overexpressing SERCA2a. - Exp Clin Cardiol. - 2010 - V. 15(4) - P. 109-15.
--	---

Ученый секретарь

ГБОУ ВПО РНИМУ

им. Н.И. Пирогова Минздрава России,

профессор



Максина А.Г.

Список основных публикаций
сотрудников за последние 3 лет

1. А. Т. Камкин, Е. Ю. Макаренко. - Механочувствительные каналы клеток сердца и их регуляция. Успехи физиологических наук. - 2012 - Т. 43, № 4. - С. 3-44
2. Камкин А.Т., Камкин А.Г., Макаренко Е.Ю., Ляхов Н.Н., Сутягин П.В., Киселева И.С. Роль оксида азота в регуляции активности