

УТВЕРЖДАЮ

Проректор – начальник

**Управления научной политики
и организации научных исследований**

МГУ имени М.В.Ломоносова

А.А.Федянин



2019 года

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу

ПАСАТЕЦКОЙ Натальи Анатольевны

«Рецептор-опосредованная модуляция сигнальной функции

Na⁺,K⁺-АТФазы»,

представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 (физиология)

Актуальность избранной диссертантом темы

Участие Na^+, K^+ -АТФазы в регуляции тонких физиологических процессов, протекающих в мембране клеток сердца, подтверждается многолетним опытом использования кардиотонических стероидов растительного происхождения в клинической практике. При лечении хронической сердечной недостаточности препараты группы сердечных гликозидов, регулируют насосную функцию Na^+, K^+ -АТФазы кардиомиоцитов, а также водно-солевой обмен. Последнее определяет положительные терапевтические эффекты дигоксина. После открытия эндогенных дигиталисоподобных факторов было установлено, что эффекторная функция опосредованного Na^+, K^+ -АТФазой каскада не зависит от ингибирования транспорта ионов, а активируется при участии киназ семейства Src и рецептора эпидермального фактора роста. Вопрос об участии в модуляции трансдукторной функции Na^+, K^+ -АТФазы иных рецепторов остается открытым. Изменение концентраций эндогенного оубаина при некоторых состояниях (стресс, беременность, кормление грудью, физические нагрузки, формирование артериальной гипертензии) и его сходство с другими факторами тканевого ремоделирования сделало исключительно актуальным изучение регуляции сигнальной функции Na^+, K^+ -АТФазы.

Считается, что потенциальными мишенями для эндогенного оубаина являются не только клетки сердца и почки, но и нейроны, клетки сетчатки, миоциты и опухолевые клетки различного генеза. Именно поэтому результаты диссертационного исследования Н.А. Пасатецкой «Рецептор-опосредованная модуляция сигнальной функции Na^+, K^+ -АТФазы», вскрывающие общие механизмы регуляции процессов кардио- и остеоремоделирования, представляют особый интерес.

Научная новизна исследования

Научная новизна, проведенных автором исследований не вызывает сомнений. Автором впервые установлено, что зона роста в органной культуре представляет собой многомерную структуру. Ранее считалось, что клетки зоны роста в органных культурах формируют монослой.

Для реализации задач, связанных с изучением остеогенеза в строго контролируемых условиях Н.А. Пасатецкой разработана оригинальная авторская

методика органотипического культивирования костной ткани 10-12-дневных куриных эмбрионов.

За последние 20 лет хорошо изучена структура и локализация Na^+, K^+ -АТФазы в клетках центральной и периферической нервной системы, сердечной и скелетной мускулатуры и некоторых клетках, формирующих эпителий. Однако, информация о субъединичном составе и физиологической роли сигнальной функции Na^+, K^+ -АТФазы в клетках, формирующих кость, практически отсутствует. Впервые в условиях органотипического культивирования ткани с помощью иммуногистохимических методов исследования с применением лазерной сканирующей микроскопии получены прямые доказательства наличия α_1 - и α_3 -изоформ Na^+, K^+ -АТФазы и β_1 -адренорецепторов на поверхности клеток, формирующих зону роста эксплантатов исследуемых тканей. Автором доказано, что оубаин дозозависимо, но не тканеспецифично регулирует рост эксплантатов ткани сердца и кости. В отличие от оубаина, кардиотонический стероид дигоксин в эндогенных концентрациях трófотропных свойств не обнаружил. Впервые, благодаря комплексному подходу, предложенному автором, основанному на использовании высокотехнологичных методов исследования, изучено участие Na^+, K^+ -АТФазы в процессах остеоремоделирования в эмбриональный период онтогенеза.

Доказано что остео- и кардиотоксическое действие гомоцистеин тиолактона реализуется за счет ингибирования насосной функции Na^+, K^+ -АТФазы.

В настоящее время накоплен большой массив данных о влиянии медиаторов симпатической нервной системы на изменение механической функции мышечных тканей. Несмотря на то, что экспрессия адренорецепторов наблюдается уже на ранних этапах эмбрионального развития данные исследований, посвященных влиянию катехоламинов на процессы роста и пролиферации клеток, неоднозначны и зачастую ограничены.

С помощью метода органотипического культивирования ткани Н.А. Пасатецкой получены оригинальные данные о трófотропном влиянии медиаторов симпатической нервной системы на процессы роста и пролиферации клеток ткани сердца и кости в период эмбриогенеза. Установлено, что адреналин и норадреналин тканеспецифично модулируют рост эксплантатов исследуемых тканей. Обнаружены существенные различия в действии катехоламинов на

процессы клеточного роста и пролиферации. По данным автора, эффективная стимулирующая рост эксплантатов ткани сердца концентрация катехоламинов, составила 10^{-12} М. Впервые на эмбриональной ткани показано, что норадреналин стимулирует рост эксплантатов ткани кости в концентрации 10^{-6} М, в то время как адреналин не оказывает трофотропного действия на данную ткань. Проведенные исследования позволили автору доказать, что регуляция роста ткани сердца адреналином и норадреналином осуществляется через β_1 -адренорецепторы. Стимулирующее рост эксплантатов ткани кости действие норадреналина, по-видимому, опосредовано α -адренорецепторами. Остеотоксическое действие адреналина и норадреналина в концентрации 10^{-4} М связано с активацией β_2 -адренорецепторов.

В условиях органотипического культивирования ткани сердца впервые доказана возможность модуляции сигнальной функции Na^+ , K^+ -АТФазы адреналином рецептор-опосредованно, через β_1 -адренорецептор. В органной культуре костной ткани адреналин влияния на трансдукторную функцию Na^+ , K^+ -АТФазы не оказывал.

Данные являются приоритетными и открывают новые возможности для продолжения исследований.

Достоверность и обоснованность результатов исследования

Достоверность и обоснованность результатов исследования не вызывает сомнений, поскольку обусловлена стандартизацией условий культивирования исследуемых тканей, анализом значительного фактического материала данных, адекватным выбором методов статистической обработки.

Задачи исследования четко и корректно сформулированы, обоснованы и полностью соответствуют цели диссертации. Представленные в работе экспериментальные данные изложены полно, четко описаны и статистически достоверны. Используемые автором экспериментальные объекты, методы и подходы высокотехнологичны и являются адекватными для работ такого рода. Выводы диссертационного исследования основаны на полученных экспериментальных результатах и отражают суть работы.

Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах

По теме работы опубликована 21 печатная работа, в том числе 9 статей, из них 2 статьи – в международных журналах, 6 статей - в рецензируемых журналах, входящих в перечень ВАК РФ, а также 12 тезисов.

Материалы работы были представлены в виде устных докладов на молодежной школе-конференции «Молекулярные механизмы регуляции физиологических функций» (Москва, 2015); XIV Всероссийской молодежной научной конференции (Сыктывкар, 2016); XIII Международной школе-конференции «Адаптация развивающегося организма» (Казань, 2016); III Всероссийской конференции с международным участием «Современные проблемы эволюционной морфологии животных» (Санкт-Петербург, 2016); Санкт-Петербургском научном форуме, посвященном 100-летию Физиологического общества им. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, 2017); XXIII съезде Физиологического общества им. И. П. Павлова (Воронеж, 2017); III Всероссийской (XVIII) молодежной научной конференции «Молодежь и наука на Севере» (Сыктывкар, 2018); XXIV Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины» (Санкт-Петербург, 2018; 2019).

Личное участие автора в получении результатов. Все экспериментальные процедуры, обработка, анализ полученных результатов, подготовка материалов для опубликования выполнены автором лично.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 126 машинописных страницах, состоит из общей характеристики работы, четырех глав (обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследования и обсуждение результатов), выводов и списка литературы (источников). Диссертация содержит 2 таблицы, результаты проиллюстрированы 46 рисунками. Библиографический список включает 41 работу отечественных и 154 зарубежных авторов.

Во введении автор обосновывает актуальность, научную новизну, теоретическую и практическую значимость избранной темы исследования, формулирует цель и задачи работы. Глава 1 «Обзор литературы» дает общую характеристику изучаемой проблемы, свидетельствует о хорошей эрудиции автора и раскрывает стоящие перед ним задачи.

В Главе 2 «Материалы и методы исследования» подробно описаны все процедуры и методы исследования. Методы статистической обработки адекватны.

Статистическая обработка данных проведена на достаточном фактическом материале с помощью программ STATISTICA 10.0. При сравнении средних значений использован t-критерий Стьюдента для двух независимых выборок. Различия считались значимыми при $p < 0,05$.

Глава 3 «Результаты». Эта глава является самой важной частью диссертации и представляет собой описание тщательно проведенных и выверенных исследований. Подобный стиль изложения результатов позволяет анализировать, полученные данные постепенно и облегчает их восприятие.

В разделе «Обсуждение результатов» автор анализирует основные результаты собственного исследования, сопоставляя их с данными, полученными другими авторами.

Выводы достоверны и основаны на полученных автором результатах.

Автореферат в сжатой форме отражает суть и результаты диссертационного исследования.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая и практическая значимость работы не вызывает сомнений.

Полученные результаты существенно расширяют имеющиеся представления о функционировании Na^+, K^+ -АТФазы в качестве трансдуктора сигнала в клетках, составляющих сообщество ткани сердца и кости. Сравнительный анализ влияния катехоламинов и препаратов группы β -адреноблокаторов на процессы ремоделирования исследуемых тканей способствует изучению общих механизмов, связывающих заболевания сердечно-сосудистой и опорной систем организма. В работе теоретически и экспериментально доказана возможность участия адренорецепторов в модуляции сигнальной функции Na^+, K^+ -АТФазы. В условиях *in vitro* получены новые данные о специфической фармакологической активности атенолола и оубаина.

Разработанная оригинальная авторская методика органотипического культивирования костной ткани может быть использована для тестирования лекарственных препаратов и остеозамещающих материалов, используемых в травматологии и ортопедии. Результаты данной работы могут быть использованы для изучения специфической фармакологической активности лекарственных препаратов, используемых для лечения заболеваний исследуемых систем организма и выявления механизмов, активация которых препятствует их развитию.

Следует особо отметить, что исследования автора были поддержаны субсидией Правительства Санкт-Петербурга для молодых ученых, молодых кандидатов наук вузов, отраслевых и академических институтов, расположенных на территории Санкт-Петербурга в 2015 году; персональным грантом для молодых ученых компании ОПТЭК (представитель Carl Zeiss на территории РФ), грантом РФФИ № 16-34-00831.

Замечания и вопросы

Хотелось бы узнать мнение автора относительно возможности участия β_3 -адренорецепторов в опосредовании трофотропных эффектов норадреналина.

Заключение

Диссертационное исследование Пасатецкой Натальи Анатольевны «Рецептор-опосредованная модуляция сигнальной функции Na^+, K^+ -АТФазы», представленное на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 — физиология является законченной научно-квалификационной работой. Работа соответствует всем требованиям, изложенным в пункте 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 №842 (с изменениями от 21.04.2016 №335), а ее автор Пасатецкая Наталья Анатольевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 (физиология).


Отзыв обсужден и одобрен на заседании Ученого Совета биологического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова.

Отзыв составил:

Д.б.н., ведущий научный сотрудник

кафедры физиологии человека и животных

биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова



Д.В. Абрамочкин