

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Натальи Анатольевны Пасатецкой на тему: «Рецептор-опосредованная модуляция сигнальной функции  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук в специализированный Диссертационный Совет Д 002.020.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте Физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук по специальности 03.03.01 – физиология.

### **Актуальность избранной темы**

Диссертационная работа Натальи Анатольевны Пасатецкой посвящена фундаментальной проблеме – исследованию возможного участия катехоламинов и гомоцистеин тиолактона в модуляции сигнальной функции  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы в ткани сердца и кости.

Эмбриональный период – самый важный период онтогенеза. В это время закладывается фундамент для правильной работы органов и систем развивающегося организма. Изменения внешних факторов или условий внутриутробного развития вызывают компенсаторные изменения в формирующихся органах эмбриона. Эти изменения в сочетании с другими факторами риска могут проявляться развитием гипертензии и ряда других заболеваний во взрослом возрасте. Зачастую сердечная патология сопровождается изменениями в костной ткани и остеопорозом. Затруднительно однозначно оценить имеющиеся в настоящее время данные об общих механизмах, лежащих в основе развития этих заболеваний.

Именно поэтому диссертационное исследование Н.А. Пасатецкой «Рецептор-опосредованная модуляция сигнальной функции  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы» является актуальным. Изучение тонких физиологических механизмов, модуляция которых может замедлить прогрессирование сердечно-сосудистой патологии и остеопороза представляет особый интерес для широкого круга исследователей и клиницистов.

## Новизна научных результатов, положений и выводов

Гипотеза о трофической функции симпатической нервной системы выдвигалась еще Л.А. Орбели. Механизм, лежащий в основе феномена Орбели-Гинецинского, отражающий адаптационные влияния медиаторов симпатической нервной системы на мышечное сокращение, долгое время был предметом исследования физиологов Казанской физиологической школы. Однако, исследования по оценке эффектов катехоламинов на рост и пролиферацию клеток возбудимых и невозбудимых тканей малочисленны и неоднозначны.

Впервые в прямых экспериментах обнаружено регуляторное влияние медиаторов симпатической нервной системы на процессы роста и пролиферации клеток ткани сердца и кости в период эмбриогенеза, опосредованное модуляцией сигнальной функции  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы. Благодаря использованию метода органотипической культуры ткани в сочетании с иммуногистохимическим окрашиванием и лазерной сканирующей конфокальной микроскопией автору впервые удалось зарегистрировать и визуализировать формирование многомерной структуры в зоне роста исследуемых тканей. Необходимо отметить, что ранее считалось, что клетки зоны роста в органных культурах формируют исключительно монослой. Для решения задач, поставленных в диссертационном исследовании, автором разработана и успешно апробирована оригинальная методика органного культивирования костной ткани.

Использование иммуногистохимического окрашивания позволило автору впервые подтвердить наличие  $\beta_1$ - адренорецепторов в клетках зоны роста ткани сердца и доказать их существование в клетках ткани кости 10-12 дневных куриных эмбрионов. Фармакологический анализ трофотропных эффектов модуляторов и блокаторов  $\beta$ -адренорецепторов в физиологически различающихся тест-системах, позволил выявить, насколько универсален сам механизм трофотропного эффекта катехоламинов. Автор доказала, что

действие адреналина и норадреналина дозозависимо и тканеспецифично, причем рост ткани сердца катехоламины модулируют в очень низких, наномолярных концентрациях.

Некоторое время назад изменение уровня гомоцистеина и гомоцистеин тиолактона считали маркером развивающейся сердечно-сосудистой, нервной и остеопатологии. Особенно опасным считается повышение концентрации гомоцистеина в период беременности. Доказано токсическое влияние высоких концентраций гомоцистеина на развивающийся организм, в частности на его нервную и сердечно-сосудистую системы. Нейротоксические эффекты, согласно данным литературы опосредованы влиянием гомоцистеина и гомоцистеин тиолактона на натриевый насос.

Н.А.Пасатецкая впервые выявила кардио и остеотоксические эффекты гомоцистеин тиолактона в условиях органотипического культивирования ткани. Связи между токсическими эффектами изучаемого вещества и сигнальной функцией  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы автор не обнаружила. Получены данные о том, что кардио- и остеотоксическое действие гомоцистеин тиолактона реализуется за счет ингибирования насосной функции  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы.

Известно, что эндогенный оуабаин, циркулирующий в организме матери, оказывает значимое влияние на рост и развитие органов плода. Поэтому особый интерес представляют данные о влиянии оуабаина и дигоксина в концентрациях, сопоставимых с эндогенными, на регуляцию роста эмбриональных тканей.

### **Научно-практическая ценность результатов работы**

Научная и практическая значимость работы не вызывает сомнений. Результаты диссертации Пасатецкой Натальи Анатольевны вносят вклад в формирование современных представлений о физиологической роли  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы в качестве трансдуктора сигнала в эмбриональном периоде развития. Именно куриный эмбрион является классическим и наиболее

чувствительным объектом при исследовании физиологической активности сердечных гликозидов.

В работе раскрываются механизмы участия катехоламинов в ремоделировании тканей. Результаты, диссертационного исследования, существенно расширяют представления об адаптационно-трофической функции симпатической нервной системы.

Автором разработана оригинальная методика органотипического культивирования костной ткани, которая может быть использована для тестирования лекарственных препаратов и остеозамещающих материалов, используемых в травматологии и ортопедии. Применение метода органотипического культивирования открывает большие возможности для анализа влияния биологически активных веществ, позволяет легко варьировать условия культивирования, моделировать ситуации, которые невозможно воспроизвести в опытах на целом организме.

Заболевания сердечно-сосудистой системы часто сопровождаются компенсаторной гипертрофией кардиомиоцитов. В большинстве случаев имеет место повышение экспрессии эмбриональных генов, генов фетальных сократительных белков и генов натрийуретических пептидов. Поэтому исследование влияний триггеров заболеваний сердечно-сосудистой системы на модели эмбриональной ткани представляется исключительно важным для понимания процессов, запускающих механизмы, препятствующие их активации.

#### **Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов, сформулированных в диссертации**

Сомнений в достоверности и обоснованности результатов исследования нет.

Работа четко спланирована. Задачи исследования сформулированы корректно и соответствуют цели диссертации. Обоснованность и достоверность научных положений диссертационной работы Пасатецкой Н.

А. определена использованием методов исследования, адекватных, поставленным задачам и анализом значительного фактического материала экспериментальных данных. Автор исследовала по 120 эксплантатов исследуемых тканей на каждую изучаемую концентрацию фармакологического агента. Методы статистической обработки адекватны, и являются общепринятыми для работ такого рода.

Выводы диссертационного исследования четко сформулированы и основаны на полученных экспериментальных результатах и в сжатом виде отражают суть работы.

### **Оценка объема, структуры и содержания диссертационной работы**

Диссертация Пасатецкой Натальи Анатольевны оформлена по классическому принципу, изложена на 126 страницах машинописного текста, включает 46 рисунков и 2 таблицы, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, списка сокращений и списка литературы, включающего 36 отечественных и 158 иностранных источников.

Во введении автор аргументированно обосновывает выбор темы исследования, описывает цель и задачи, научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы и формулирует положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы в достаточной степени предоставляет информацию о роли эндогенных кардиотонических стероидов, катехоламинов и гомоцистеин тиолактона в норме и при развитии патологии различного генеза. Автор описывает структуру  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы, её функции. Обзор литературы заканчивается описанием особенностей модуляции насосной функции  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы через адренергические сигнальные пути.

В главе «Материалы и методы» подробно описаны объекты исследования. Представлены детальные протоколы экспериментов, обработка результатов и статистический анализ, полученных данных.

Основной метод исследования – метод органотипической культуры ткани – дополнен высокотехнологичным подходом с использованием иммуногистохимического метода и лазерной сканирующей конфокальной микроскопии.

В главе «Результаты» последовательно приведены данные по изучению участия  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы в ремоделировании ткани сердца и кости. В первую очередь, рассмотрено влияние блокаторов  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ - АТФазы на процессы ремоделирования исследуемых тканей. Установлено, что оубаин способен, как стимулировать, так и угнетать рост эксплантатов ткани кости и сердца в зависимости от концентрации. Дигоксин не оказывал трофотропного действия и в высоких концентрациях угнетал рост эксплантатов исследуемых тканей.

Следующая часть данной главы посвящена влиянию гомоцистеин тиолактона на пролиферацию клеток костной и сердечной ткани. Показано, что гомоцистеин тиолактон дозозависимо угнетал рост эксплантатов ткани сердца и кости. При исследовании механизмов токсического действия гомоцистеин тиолактона в условиях органотипического культивирования эксплантатов ткани сердца и кости в присутствии ингибирующих концентраций оубаина выявлено, что гомоцистеин тиолактон не устраняет ингибирующее действие оубаина. Трофотропный эффект оубаина ( $10^{-10}$  М) на фоне гомоцистеин тиолактона ( $10^{-3}$  М) отсутствовал. Автор делает справедливое заключение о том, что кардио- и остеотоксическое действие гомоцистеин тиолактона реализуется за счет ингибирования насосной функции  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы.

Отдельная часть диссертационного исследования посвящена оценке эффектов катехоламинов в условиях органотипического культивирования ткани сердца и кости, а также их участия в рецептор-опосредованной модуляции трансдукторной функции  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы. Фармакологический анализ с использованием селективных и неселективных адrenoблокаторов позволил установить участие различных типов адrenoрецепторов в рецептор-

опосредованной модуляции сигнальной функции  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы в клетках, формирующих ткани сердца и кости.

Глава «Обсуждение результатов» представлена на 11 страницах машинописного текста и включает обобщение собственных результатов, их интерпретацию, сопоставление с имеющимися данными в мировой литературе. Изложение и интерпретация представленных в разделе материалов обосновывает положения диссертации, выносимые на защиту, и логически подводит к выводам работы.

Выводы диссертации обоснованы результатами исследования, анализом значительного фактического материала и соответствуют поставленным задачам.

Замечаний к работе нет. Материалы диссертации опубликованы в отечественных и зарубежных журналах (в том числе из списка ВАК и Scopus) и широко представлены в виде докладов на Всероссийских и Международных конференциях.

При ознакомлении и анализе материалов, изложенных в диссертации, возник ряд вопросов:

1. Почему блокатор  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы оубаин вызывает разнонаправленный эффект на рост эксплантатов? Концентрация  $10^{-10}$  М положительный, а  $10^{-8}$  М отрицательный.

2. Какие функции в организме человека могут выполнять эндогенные дигиталисоподобные факторы, и существует ли тканевая и видовая специфичность?

Высказанные вопросы не затрагивают суть диссертации и носят дискуссионный характер.

### **Заключение по диссертационной работе**

Считаю, что содержание диссертационной работы, научных работ, опубликованных автором, позволяет сделать заключение о том, что диссертационная работа Пасатецкой Натальи Анатольевны, выполненная на тему: «Рецептор-опосредованная модуляция сигнальной функции  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -

АТФазы» по специальности 03.03.01 – физиология, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи, имеющей значение для развития физиологии. По актуальности, структуре и объему исследований, научной и практической значимости результатов, степени обоснованности научных положений и выводов работа Н.А Пасатецкой. соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г., №842 (в редакции Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а её автор Наталья Анатольевна Пасатецкая заслуживает искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01- физиология.

Доцент кафедры охраны здоровья человека  
Федерального государственного автономного  
образовательного учреждения высшего  
образования "Казанский федеральный  
университет", кандидат биологических наук.

Зверев Алексей Анатольевич

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования "Казанский федеральный университет".  
420008, Россия, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Кремлевская, д.18.  
e-mail: Aleksei5@rambler.ru  
Контактный телефон: 89046624632  
« 19 » сентября 2019г.

