

«УТВЕРЖДАЮ»



И.о. директора ФГБУН

Институт теоретической и

экспериментальной биофизики РАН,

доктор мед. наук, профессор

Е.И. Маевский

2016 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической ценности диссертационной работы Бирулиной Юлии Георгиевны «Роль калиевых каналов и газотрансмиттеров в регуляции сокращений гладких мышц сосудов при гипоксии и реоксигенации», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.03.01 – физиология, 03.01.02 – биофизика

Актуальность исследования

Диссертационная работа Бирулиной Юлии Георгиевны представляет собой комплексное фундаментальное исследование, направленное на оценку влияния калиевых каналов и газовых посредников – монооксида углерода и сероводорода – на сократительные реакции гладких мышц кровеносных сосудов в условиях гипоксии и реоксигенации.

Проблема установления механизмов влияния гипоксии и реоксигенации на функциональную стабильность клеток различных тканей и органов и возникающих при этом последствий не нова. Но сложная динамика этих процессов, вовлеченность в них широкого спектра функционально-метаболических систем, контролирующих их на разных уровнях организации, только подтверждают множественность лимитирующих участков и путей, лежащих в основе гипоксии и реоксигенации. В своем исследовании автор ставит цель изучить возможные эффекторные механизмы воздействия гипоксии и реоксигенации на сократительную активность сосудистых гладкомышечных клеток. Поскольку последние играют важную роль в регуляции просвета кровеносных сосудов, следовательно, системного артериального давления и локального снабжения тканей кислородом, а любые нарушения их оксигенации неизбежно повлекут и изменение сократительной функции.

Кроме этого, в реализацию сократительных ответов сосудистых ГМК при гипоксии и реоксигенации могут вносить вклад различные вазоактивные агенты, среди них и газовые посредники – монооксид углерода (CO) и сероводород (H₂S). В настоящее время изучение роли данных медиаторов в регуляции функций большинства органов и тканей весьма актуально. Осуществляя свои эффекты лиганд-независимым способом, газотрансмиттеры не могут не испытывать действия парциального напряжения кислорода. Причем дополнительное включение внутриклеточных сигнальных и эффекторных систем, обусловленное особенностями их собственного влияния на сокращения гладкомышечных

клеток, может изменяться при гипоксии и реоксигенации и быть еще одним указанием на молекулярные мишени, задействованные в изменении функциональной активности клеток. Поиск и выявление внутриклеточных сигнальных механизмов, в том числе отдельных звеньев газовой коммуникации, ответственных за модуляцию сократительной функции гладких мышц, может стать основой для разработки подходов к управлению электрофизиологическими свойствами гладкомышечных клеток кровеносных сосудов при различных физиологических и патологических состояниях.

В связи с вышесказанным, диссертационная работа Бирулиной Ю.Г. по изучению молекулярных механизмов регуляции сократительных свойств гладких мышц сосудов при гипоксии и реоксигенации является актуальной и может характеризоваться как перспективное и интересное широким кругу ученых исследование.

Новизна исследования и ценность полученных результатов

Научная новизна диссертационной работы Бирулиной Ю.Г. определяется изучением ряда закономерностей, направленных на уточнение роли калиевой ионной проводимости мембраны и газомедиаторов в регуляции процессов сопряжения возбуждения-сокращения в гладкомышечных клетках при нарушении их оксигенации. Соискатель в своей работе доказывает, что наблюдаемые вазорелаксирующие эффекты гипоксии и реоксигенации достоверно сильнее выражены на фоне предсокращения гладкомышечных сегментов аорты крысы физиологически активным веществом – фенилэфрином. Устанавливает, что расслабление гладкомышечных клеток обусловлено активацией калиевой проводимости их мембраны и повышением выходящего потока ионов калия не только по АТФ-чувствительным калиевым каналам, но и потенциал-зависимым калиевым каналам. Эти результаты также подтверждаются при исследовании внутриклеточного баланса моновалентных катионов калия и натрия в культуре гладкомышечных клеток аорты крысы. Автором получены принципиально новые данные о том, что в условиях гипоксии и реоксигенации происходит ослабление релаксирующего влияния монооксида углерода на сокращения сосудистых сегментов, индуцированные гиперкалиевым раствором и фенилэфрином. Сероводород действует при гипоксии аналогичным образом, но в условиях реоксигенации вызывает расслабление гладких мышц, сокращения которых вызваны только деполяризацией мембраны гиперкалиевым раствором.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Полученные соискателем данные можно охарактеризовать как имеющие фундаментально-прикладной характер. Они, несомненно, расширяют имеющиеся представления о механизмах регуляции процессов сопряжения возбуждения-сокращения в гладких мышцах при гипоксии и реоксигенации. Результаты исследования значительно дополняют существующие знания о способах регуляции биологически активными веществами сократительной активности гладкомышечных клеток кровеносных сосудов в условиях снижения парциального напряжения кислорода. Особо следует отметить полученные соискателем новые сведения о влиянии газовых посредников (монооксида углерода и сероводорода) на сократительные ответы гладких мышц в условиях гипоксии и реоксигенации, которые могут иметь значение не только с позиции фундаментального знания о принципах регуляции внутриклеточных сигнальных систем, но и быть

полезными при разработке принципов коррекции нарушений двигательной функции гладких мышц.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Результаты проведенного Бирулиной Ю.Г. исследования могут быть направлены на поиск новых патогенетически обоснованных методических подходов к коррекции гипоксических и реоксигенационных состояний, поскольку знание молекулярных мишеней, задействованных при этом необходимо для создания адекватных подходов к лечению и профилактике заболеваний, осуществляемых на клеточном и молекулярном уровнях.

Наряду с этим, основные научные положения могут быть использованы для преподавания ряда фундаментальных дисциплин в медицинских и биологических ВУЗах («Физиология», «Биофизика сократительных процессов», «Биофизика органов и тканей» и т.д.).

Результаты диссертационного исследования и основные методологические приемы внедрены в научно-исследовательский и учебный процессы кафедр биофизики и функциональной диагностики, нормальной физиологии Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Структура и содержание работы

Диссертационная работа Бирулиной Ю.Г. изложена на 118 страницах машинописного текста, содержит 5 таблиц, 26 рисунков, построена в традиционном стиле, состоит из введения, глав «Обзор литературы», «Материал и методы исследования», «Результаты собственных исследований и их обсуждение», заключения, выводов и списка литературы. Общее число страниц – 118, включает 5 таблиц, 26 рисунков. Библиографический указатель состоит из 242 источников (50 – отечественные, 192 – зарубежные).

Во введении автор обосновывает актуальность и целесообразность проведения данного научного исследования, формулирует цель и задачи.

Первая глава диссертации детально освещает имеющиеся к настоящему времени данные о механизмах гипоксического и реоксигенационного воздействия на клетки и ткани различных органов. Углубляясь в изучаемую проблему, автор анализирует материалы литературных источников, касающиеся непосредственно влияния процессов гипоксии/реоксигенации на сократительную функцию гладких мышц кровеносных сосудов. Особое внимание уделяет описанию метаболизма и роли монооксида углерода и сероводорода в процессах сопряжения возбуждения-сокращения в гладкомышечных клетках при действии различных физиологических и патологических факторов, в том числе, с позиции их возможной цитопротекторной функции.

Вторая глава содержит описание используемых в экспериментальном исследовании материалов и методов. Подробно изложена методика приготовления изолированных гладкомышечных препаратов аорты крысы для изучения их сократительной активности. Корректно составлен протокол проведения исследования и регистрации сократительных реакций сосудистых сегментов механографическим методом помощью установки Myobath II (Германия), моделирования условий гипоксии *in vitro*. В достаточном объеме описана методика оценки ионного баланса катионов натрия и калия,

внутриклеточного содержания АТФ в культуре гладкомышечных клеток аорты крысы радионуклидным методом. Представлены основные формулы для расчета относительного вклада различных типов калиевых каналов в эффекты гипоксии и реоксигенации, определения внутриклеточной концентрации катионов. Статистический анализ результатов выполнен согласно приведенным критериям.

Третья глава диссертационной работы содержит описание и обсуждение результатов исследования. Состоит из 4 разделов, каждый из которых завершается обобщающим заключением, что существенно улучшает восприятие изложенной информации. К тому же, полученные экспериментальные данные хорошо иллюстрированы рисунками, графиками и систематизированы в виде таблиц. Диссертант проводит обсуждение своих результатов и сопоставление их с современными научными взглядами на механизмы регуляции сократительной функции гладких мышц аорты крысы при гипоксии и реоксигенации. Автор приходит к выводу, что ключевой эффекторной системой гипоксии и реоксигенации является калиевая проводимость мембраны гладкомышечных клеток, в частности, ее потенциал-зависимый, Ca^{2+} -активируемый и АТФ-чувствительный компоненты. Но, при этом также отмечает, что и катионы натрия могут оказывать модулирующее действие на развитие сокращений сосудистых сегментов, причем внутриклеточное содержание последних в условиях недостатка кислорода увеличивается на фоне снижения уровня макроэргов. Исследуя эффекты CO и H_2S на механическое напряжение сосудистых гладкомышечных клеток, диссертант убедительно показывает, что монооксид углерода и сероводород способны оказывать различные вазоактивные эффекты при действии отличающихся по природе агентов в условиях гипоксии и реоксигенации.

Выводы соответствуют поставленным задачам, полностью отражают результаты проведенного исследования. Автореферат диссертации в полной мере отражает содержание и основные положения диссертационной работы.

Обоснованность и достоверность полученных результатов и выводов

Достоверность и обоснованность полученных результатов и выводов диссертационной работы Бирулиной Ю.Г. основывается на достаточном объеме экспериментального материала, продуманном дизайне экспериментов, использовании современных и информативных методов исследования. Полученные результаты обработаны с помощью соответствующих непараметрических критериев статистического анализа. Достоверность результатов и сформулированных выводов работы сомнений не вызывает. Научные исследования Бирулиной Ю.Г. неоднократно докладывались и обсуждались на конференциях и симпозиумах не только российского, но и международного уровня. Основные научные положения, выдвигаемые соискателем, в полной мере изложены в опубликованных печатных работах, из них 6 – в ведущих рецензируемых журналах и изданиях, рекомендованных ВАК РФ, 1 научная статья в зарубежном журнале, 7 – статей и тезисов в материалах конференций и симпозиумов.

Замечания и вопросы по диссертационной работе

В качестве замечания, пожалуй, следует отметить, что работа не лишена опечаток и некоторых неточностей. Однако принципиальных замечаний, снижающих ценность представленного исследования, нет.

В ходе ознакомления с диссертационной работой Бирулиной Ю.Г. возникло несколько вопросов:

- Насколько предложенная автором модель создания гипоксии *in vitro* соотносится с гипоксией, действительно возникающей в клетках и тканях, при которой наряду со снижением парциального напряжения кислорода развивается увеличение парциального напряжения углекислого газа?
- В связи с чем, по мнению автора, не наблюдалось статистически значимого увеличения проводимости АТФ-чувствительных калиевых каналов?
- Почему настолько разнятся эффекты, оказываемые монооксидом углерода и сероводородом, при реоксигенации? В чем возможный механизм наблюдаемых явлений по мнению соискателя?

Заключение

Диссертационная работа Бирулиной Ю.Г. на тему «Роль калиевых каналов и газотрансмиттеров в регуляции сокращений гладких мышц сосудов при гипоксии и реоксигенации» по специальностям 03.03.01 – физиология и 03.01.02 – биофизика представляет собой законченное научно-квалификационное исследование, содержащее решение значимой для физиологии и биофизики задачи по установлению общих закономерностей влияния калиевых каналов и газотрансмиттеров – монооксида углерода и сероводорода – на сократительные ответы сосудистых гладкомышечных клеток при гипоксии и реоксигенации.

Диссертация Бирулиной Юлии Георгиевны соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.03.01 – физиология, 03.01.02 – биофизика.

Отзыв рассмотрен и утвержден на заседании лаборатории функциональной биофизики белка Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, протокол № 5 от 9 сентября 2016 г.

Заведующий лабораторией функциональной
биофизики белка ФГБУН ИТЭБ РАН,
доктор биологических наук

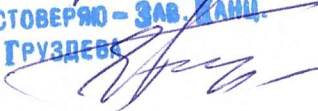


Николай Яковлевич Орлов

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук (ИТЭБ РАН)

Адрес: 142290 Московская область, г. Пущино, ул. Институтская, д. 3
Телефон: 8(495)632-78-69; e-mail: office@iteb.ru; site: <http://web.iteb.psn.ru>



Подпись: 
УДОСТОВЕРЯЮ – Зав. лаб.
Е. Н. ГРУЗДЕВ 

В диссертационный совет Д 501.001.93, созданным на базе ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (119234 г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12)

СВЕДЕНИЯ

о ведущей организации, представившей отзыв по диссертации

Бирулиной Юлии Георгиевны на тему: «Роль калиевых каналов и газотрансмиттеров в регуляции сокращений гладких мышц сосудов при гипоксии и реоксигенации», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.03.01 – физиология, 03.01.02 – биофизика

Полное и сокращенное название ведущей организации	Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук (ИТЭБ РАН)
ФИО, ученая степень, ученое звание руководителя ведущей организации	Белецкий Игорь Петрович, доктор биологических наук, профессор
ФИО, ученая степень, ученое звание, должность сотрудника организации составившего отзыв ведущей организации	Орлов Николай Яковлевич, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией функциональной биофизики белка
Список основных публикаций сотрудников ведущей организации по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет	• Андреева Л.А., Накипова О.В., Сергеев А.И., Аверин А.С., Лобанов А.В., Рыков В.А., Чемерис Н.К., Гришина Е.В., Мурашев А.Н., Дынник В.В. Дисрегуляция NO/CGMP/CADPR/Ca²⁺-сигнального пути в сосудах и миокарде спонтанно гипертензивных крыс // Фундаментальные исследования. 2013. № 6. С. 1397-1401. • Шигаева М.И., Таланов Е.Ю., Венедиктова Н.И., Мурзаева С.В., Миронова Г.Д. Роль кальретикулина в функционировании митохондриального АТФ-зависимого калиевого канала // Биофизика. 2014. Т. 59, № 5. С. 887-894. • Розова Е.В., Маньковская И.Н., Миронова Г.Д. Структурно-динамические изменения в митохондриях миокарда крыс при острой гипоксической гипоксии: роль митохондриального АТФ-зависимого калиевого канала // Биохимия. 2015. Т. 80, № 8. С. 1186-1194. • Левин С.Г., Конаков М.В., Годухин О.В. Роль ВК_{Ca} калиевых каналов в механизмах модулирующего действия ИЛ-10 на индуцируемые гипоксией изменения в активности нейронов гиппокампа // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015. Т. 160, № 11. С. 589-592. • Петрухин О.В., Т.Г. Орлова Т.Г., А.Р. Незвецкий А.Р., Н.Я. Орлов Н.Я. Активация cGMP-специфичной фосфодиэстеразы палочек сетчатки быка комплексом трансдуцин-GTP в диапазоне физиологически важных изменений концентрации

	Ca^{2+} // Биофизика 2014, Т. 59, № 5, С. 854–861. • Pogorelova M.A., Tarasov A.V., Pogorelova V.N., Panait A.I., Pogorelov A.G., Golichenkov V.A. Cyto B dependent and ouabain insensitive regulatory volume decrease in bicellular mouse embryo // Russian Journal of Developmental Biology. 2012. Vol. 43, N 2. P. 77-84. • Maltsev A.V., Nenov M.N., Pimenov O.Y., Kokoz Y.M. Modulation of I-type Ca^{2+} currents and intracellular calcium by agmatine in rat cardiomyocytes // Biochemistry (Moscow) Supplement. Series A: Membrane and Cell Biology. 2013. Vol. 30, N 2. P. 92. • Venediktova N., Shigaeva M., Belova S., Belosludtsev K., Belosludtseva N., Gorbacheva O., Lezhnev E., Mironova G., Lukyanova L. Oxidative phosphorylation and ion transport in the mitochondria of two strains of rats varying in their resistance to stress and hypoxia // Molecular and Cellular Biochemistry. 2013. Vol. 383. P. 261-264. • Gorbacheva O.S., Moshkov D.A., Venediktova N.I., Mironova G.D. The role of the ATP-sensitive potassium channel in the activation of the K^+ cycle in rat liver mitochondria // Biochemistry (Moscow) Supplement. Series A: Membrane and Cell Biology. 2014. Vol. 8, N 2. P. 178-182.
--	--

Адрес ведущей организации

Индекс	142290
Объект	ИТЭБ РАН
Город	Пушино
Улица	Институтская
Дом	3
Телефон	8(495)632-78-69
e-mail	office@iteb.ru
Web-сайт	http://www.web.iteb.ru

Ведущая организация подтверждает, что соискатель не является ее сотрудником и не имеет научных работ по теме диссертации, подготовленных на базе ведущей организации или в соавторстве с ее сотрудниками.

Зам. директора ИТЭБ РАН
доктор мед. наук, профессор



Е.И. Маевский