

Отзыв

официального оппонента Шпакова Александра Олеговича

на диссертацию на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Селивановой Екатерины Константиновны

на тему: «Механизмы влияния тиреоидных гормонов на артерии крыс»

по специальности 03.03.01 – «Физиология»

Актуальность проблемы. Диссертационная работа Е.К. Селивановой посвящена изучению механизмов тиреоидной регуляции тонуса артерий скелетных мышц крысы. В работе рассматриваются возможные механизмы снижения периферического сопротивления сосудов, наблюдаемого при гипертиреозе. Полученные в работе результаты в дальнейшем могут учитываться при разработке методик фармакологической коррекции сосудистых нарушений, сопровождающих патологию тиреоидной оси. В связи с тем, что заболевания щитовидной железы относятся к наиболее распространенным эндокринным патологиям, представленная диссертационная работа является актуальной как с фундаментальной, так и практической точек зрения.

Структура работы. Диссертационная работа Е.К. Селивановой изложена на 154 страницах машинописного текста, построена по традиционному плану, качественно иллюстрирована. Отдельная глава посвящена обсуждению и обобщению полученных результатов. Работу завершает список цитируемой литературы, который включает 312 ссылок, из них 12 русскоязычных.

Автореферат достаточно полно и корректно передает содержание диссертационной работы и оформлен надлежащим образом.

Общая характеристика работы.

Во введении приводится обоснование актуальности проблемы, четко формулируются цель и задачи работы. Обзор данных литературы достаточно полно раскрывает исследуемую область. Последовательно охарактеризованы общие принципы работы тиреоидной оси, геномный механизм действия тиреоидных гормонов, регуляция экспрессии дейодиназы 2-го типа и негеномное действие тиреоидных гормонов. Особое внимание уделено тиреоидной регуляции тонуса сосудов. Обзор литературы хорошо иллюстрирован таблицами и рисунками, в том числе обобщающей схемой негеномного действия тиреоидных гормонов, разработанной автором. Обзор написан на основании анализа большого количества литературных источников, среди которых как классические, так и совсем недавно опубликованные работы, характеризующие современный уровень развития проблемы.

Работа проведена с использованием широкого спектра физиологических и молекулярно-биологических методов и подходов. Отдельно хотелось бы отметить использование трех трудоемких моделей патологий *in vivo*, которые позволили изучить механизмы регуляции экспрессии дейодиназы 2-го типа в артериях в физиологических условиях. Для характеристики моделей успешно применены иммуноферментный анализ, определение метаболитов NO по методу Грисса, плетизмографический метод регистрации систолического артериального давления. Кроме того, для выявления функциональной роли внутриклеточной продукции трийодтиронина (Т3) в сосудах впервые в мировой практике был использован подход культивирования целых артерий в присутствии ингибитора 5'-дейодирования иопаноевой кислоты с последующей регистрацией ответов артерий в изометрическом режиме в системе *wire myograph*. Для оценки уровня экспрессии генов в работе широко используются методы полимеразной цепной реакции в реальном времени и Вестерн блоттинг. Стоит также отметить, что Вестерн блоттинг применяли не

только для оценки общего содержания белка, но и для определения уровня фосфорилированных форм белков в условиях, аналогичных условиям исследования вазомоторных ответов (растяжение артерий и их сокращение путем добавления агониста α_1 -адренорецепторов). Это позволило адекватно соотнести результаты функциональных и молекулярных тестов и выявить связь негеномного расслабляющего действия тироксина (Т4) на артерии скелетных мышц крыс со снижением степени фосфорилирования регуляторных легких цепей миозина.

В работе Е.К. Селивановой получен обширный массив приоритетных данных, тщательно выполнены контрольные эксперименты, проведена грамотная статистическая обработка результатов, а также логичное, последовательное и достаточно полное их обсуждение.

В данной работе впервые было показано, что уровень мРНК для дейодиназы 2-го типа в артериях скелетных мышц зависит от тиреоидного статуса организма и выраженности симпатических влияний, но не зависит от уровня продукции такого важного вазоактивного агента, как NO. Впервые охарактеризованы изменения в экспрессии мРНК дейодиназы 2-го типа и ядерных рецепторов тиреоидных гормонов в ходе культивирования артерий на протяжении 8–48 часов. Впервые показано, что активность дейодиназы 2-го типа, а следовательно, и внутриклеточный синтез Т3 в стенке артерий скелетных мышц необходим для поддержания продукции NO. Проведен сравнительный анализ негеномных эффектов Т3 и Т4 на тонус артерий скелетных мышц. Впервые предложен механизм негеномного расслабляющего действия Т4 на артерии икроножной мышцы, включающий в себя подавление интегрин-индуцированной сигнализации и уменьшение уровня фосфорилирования регуляторных легких цепей миозина в гладкомышечных клетках сосудов. Полученные данные обладают несомненной научной новизной.

Публикации по результатам исследований. По теме диссертации опубликовано 13 работ, в том числе 5 статей и 2 тезисов в рецензируемых журналах, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ, а также 3 статьи в сборниках и 3 тезисов докладов в сборниках материалов конференций.

Замечания. Несмотря на объем и полноту литературного обзора, его начало можно было бы дополнить разделом, посвященным терминологии в области классификации механизмов действия тиреоидных гормонов. Автор рассматривает их довольно кратко, приводя лаконичные определения геномных и негеномных эффектов. Тем не менее, такая, пусть и общепринятая, классификация требует дополнительного пояснения в связи с тем, что негеномные эффекты способны оказывать влияние на транскрипцию генов. В работе присутствуют некоторые опечатки и неточности, например, несовпадение обозначений на схеме механизмов негеномного действия тиреоидных гормонов (рис. 2) с подписью к рисунку. Тем не менее, они не искажают сути работы и не осложняют ее восприятие.

При прочтении работы возникают следующие **вопросы:**

1. Автор показал, что в артериях скелетных мышц Т4 вызывает более выраженное негеномное расслабление, чем Т3. При этом в литературном обзоре и обсуждении автор неоднократно упоминает о том, что соотношение интенсивности эффектов Т3 и Т4 различается в разных участках сосудистого русла. Так Т3 и Т4 оказывают сходные эффекты на коронарные сосуды, тогда как в артериолах скелетных мышц Т3 вызывает более выраженное расслабление, чем Т4. Какова физиологическая значимость таких различий в выраженности негеномных эффектов Т3 и Т4?
2. Известно, что и Т3, и Т4 способны связываться с интегрином $\alpha\upsilon\beta3$. Однако автор в своем исследовании сосредоточился на взаимодействии интегрин

$\alpha\beta_3$ только с T4. Может ли интегрин $\alpha\beta_3$ участвовать в негеномном расслаблении артерий скелетных мышц, вызванном T3?

3. При исследовании механизмов негеномного действия T4 на тонус сосудов автор использовал сравнительно высокие фармакологические дозы гормона. В обсуждении он аргументированно поясняет, что отчасти это может быть связано с использованием системы wire myograph, так как известно, что чувствительность артерий к агонистам в этом методе снижается по сравнению с экспериментами в системе pressure myograph или в условиях *in vivo*. Тем не менее, как утверждает сам автор, даже с учетом особенностей методики wire myograph наибольший вклад в периферическое сопротивление сосудов T4 будет вносить при гипертиреозе. Какова физиологическая значимость такого эффекта при гипертиреозе, каковы его возможные механизмы и с чем связана необходимость T4-опосредуемого снижения периферического сопротивления сосудов в условиях «физиологического» избытка T4?

4. Автор показал, что T4 вызывает негеномное подавление сократительных ответов артерий на агонист α_1 -адренорецепторов метоксамин. При этом культивирование артерий в присутствии T4 не приводило к ослаблению сократительных ответов на метоксамин. С чем это может быть связано – с использованием разных концентраций T4 или же с кратковременностью его вазорелаксирующего эффекта?

Заключение. Диссертационная работа Е.К. Селивановой представляет собой актуальное комплексное исследование различных аспектов тиреоидной регуляции тонуса сосудов крыс, обладающее несомненной научной новизной. Полученные автором результаты достоверны, выводы и заключения достаточно обоснованы и представляют интерес для специалистов в области эндокринологии и сосудистой физиологии. Указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация в полной мере отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода.

Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 03.03.01 – «Физиология» по биологическим наукам, а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, а также оформлена, согласно приложениям № 5 и 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Селиванова Екатерина Константиновна вполне заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – «Физиология».

Официальный оппонент:

Шпаков Александр Олегович
заведующий лабораторией молекулярной эндокринологии и нейрохимии,
заместитель директора по науке, доктор биологических наук
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт
эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской
академии наук

Адрес места работы: 194223, Россия, г. Санкт-Петербург, пр. Тореза, д. 44

Тел.:

E-mail:

Специальность, по которой защищена диссертация оппонентом:

03.01.04 Биохимия

Александр Олегович Шпаков

«01» ноября 2021 года

