

УТВЕРЖДАЮ:

Проректор по научной работе

С.П. ТУНИК



### ОТЗЫВ

ведущей организации Федеральное государственное бюджетное  
образовательного учреждения высшего образования  
«Санкт-Петербургский государственный университет»  
на диссертационную работу Е.А. Лебедевой  
«Роль токов ионов натрия в морфологии потенциалов действия клеток  
синусно-предсердного узла у мыши и кролика»,  
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук  
по специальности 03.03.01 – «физиология»

#### **Актуальность темы выполненной диссертационной работы.**

Одним из важных направлений изучения динамики работы водителей ритма сердца, особенно синусно-предсердного узла (СП-узла), является изучение роли ионных токов, участвующих в формировании потенциалов действия (ПД) клеток СП-узла – водителя сердечного ритма. Нарушения в работе СП-узла может вызвать возникновение аритмий в работе сердца с последующей его остановкой. По этой причине исследование автором механизмов формирования спонтанных импульсов в сердце является актуальным. Именно благодаря таким работам разрабатываются новые

подходы для изучения и понимания функционирования биологических пейсмекеров. Клетки СП-области сердца неоднородны, эта неоднородность обусловлена разной экспрессией в кардиомиоцитах каналов для ионов натрия, калия и кальция, участвующих в формировании ПД миоцитов. Этот вопрос изучается специалистами-кардиологами весьма интенсивно, однако роль ионов натрия в генерации фазы 0 у тех клеток, где крутизна нарастания  $dv/dt \max$  меньше 5В/с до сих пор активно обсуждается. Наибольшее количество работ по электрофизиологии сейчас выполнено на СП-узле кролика. В то же время СП-узел мыши по генетической близости, сходству организации и функциональным характеристикам является наиболее распространенной моделью в исследованиях ряда лабораторий. Совместное рассмотрение особенностей этих двух разработок и анализ полученных фактов представляется своевременным и актуальным.

#### **Научная новизна полученных результатов.**

Автор впервые в условиях внутриклеточной регистрации электрической активности миоцитов проанализировал роль натриевого тока в формировании ПД клеток СП-узла мыши в условиях, близких к естественным. Новыми и оригинальными являются данные, что в клетках с самой медленной скоростью нарастания переднего фронта ПД, входящий натриевый ток, чувствительный к тетродотоксину и лидокаину, участвует в формировании 2-х фаз: быстрой деполяризации и медленной диастолической деполяризации. Также впервые показано, что в формировании фаз ПД у клеток истинного и скрытого водителей ритма величина этого тока различна и эти различия проявляются по-разному у мыши и кролика. Впервые удалось установить, что при блокаде натрий-калиевого насоса убаином препараты СП-узла мыши почти в 10 раз устойчивее к этому блокатору, чем клетки этого узла у мыши. Скорость фазы быстрой деполяризации клеток водителя ритма СП-узла у мыши падает пропорционально внеклеточной концентрации натрия. В формировании фазы 0 также принимает участие кальциевый ток L-типа. Впервые выявлено, что

эффективная концентрация лидокаина, снижающая скорость фазы быстрой деполяризации на 50% у клеток водителей ритма мышцы, составила приблизительно 28 мкм, что в 8 раз ниже, чем у кролика.

**Научно-практическая ценность полученных автором результатов.**

Результаты проведенного исследования позволяют углубить современные представления о роли токов ионов натрия в механизмах регуляции автоматизма пейсмекерных клеток СП узла у мыши и кролика. Эти данные могут быть использованы для построения математических моделей генерации ПД с учетом электрической неоднородности клеток СП узла, что важно для выявления причин патологических изменений в СП и, в связи с этим, нарушения работы сердца. Кроме того, эти данные будут полезны при разработке способов фармакологического воздействия для регулирования активности клеток СП узла и восстановления нормального автоматизма этой области сердца, в том числе у человека. Полученные данные об участии токов разных ионов, особенно натрия, в регуляции автоматизма миоцитов этой зоны важны для биомедицинских целей, так как отражают пластичность разных клеток этого узла в условиях патологий и должны учитываться при создании биологических пейсмекеров, используемых при дисфункции СП узла. Автору удалось впервые выявить у клеток СП узла тот факт, что входящий натриевый ток, чувствительный к тетродотоксину и лидокаину, участвует в формировании фазы быстрой деполяризации и фазы медленной диастолической деполяризации. У мыши и у кролика оказалась разная чувствительность к лидокаину – блокатору потенциалзависимых натриевых каналов. Анализ дозозависимых кривых изменения скорости фазы быстрой деполяризации позволил определить эффективную концентрацию лидокаина, при которой достигается 50% эффект. Интересен факт, что эта концентрация для мыши в 8 раз меньше, чем у кролика. Есть различие и при ингибировании натрий-калиевого насоса убаином, в этом случае препараты СП узла мыши в 10 раз

устойчивее, чем у кролика. Эти данные интересны и в сравнительно-физиологическом плане, следует продолжить такие исследования.

**Степень обоснованности и достоверность научных положений, выводов и заключений.**

Задачи исследования корректны и адекватны поставленной цели. Представленная работа является результатом анализа достаточного в количественном отношении статистического материала. Полученные результаты статистически обработаны с привлечением современных компьютерных программ. Можно с уверенностью заключить, что сформулированные автором на основании полученных результатов и выдвинутые на защиту научные положения и выводы являются достоверными и вполне обоснованными. Это заключение подтверждается адекватностью использованных в работе методов, убедительным и аргументированным изложением данных, а также представленным иллюстративным материалом.

**Структура и объем диссертации.**

Диссертация представлена в стандартном изложении, состоит из введения (с.3-8), обзора литературы (глава 1, с.9-35), описания материалов и методов исследования (глава 2, с.35-47), результатов исследования (глава 3, с.47-86), обсуждения результатов (глава 4, с.87-105), заключения (с.105-106), выводов (с.107), списка сокращений (с.108) и списка использованной литературы (с.109-126), включающего 171 источник, из них 24 отечественных и 147 иностранных. Рукопись изложена на 126 страницах машинописного текста, снабжена 13 таблицами и 26 рисунками. Автор во введении раскрывает актуальность выбранной проблемы. В 1-й главе (обзор литературы) представлен обзор публикаций и официальных источников, содержатся систематизированные современные сведения о морфологии СП-узла сердца мыши и кролика, о вовлеченных в регуляцию работы сердца ионных каналах и токах, обеспечивающих автоматический режим работы сердечной мышцы.

Обзор написан хорошим литературным языком, автор успешно интегрирует материал отечественных и зарубежных исследователей, объединяет ставшие классическими и современные исследования. Обзор свидетельствует о хорошей ориентации автора в современной литературе по изучаемой проблеме. В главе «Материалы и методы исследования» достаточно подробно описаны применяемые в работе экспериментальные методы, фармакологические агенты, методы статистического анализа полученных результатов. Для считывания параметров ПД и получения усредненных значений ряда параметров автором использована оригинальная программа вычисления и построения дозозависимых кривых, разработанная старшим научным сотрудником Института физиологии Коми НЦ УрО РАН к.б.н. Артеевой Н.В.

Следует отметить, что поставленные в работе задачи решались комплексно, с применением различных экспериментальных методов, морфологических, электрофизиологических, фармакологических. Результаты собственных исследований представлены полно и рационально, обсуждены с учетом современного состояния исследований в данной области физиологии. Приведенные в тексте таблицы и рисунки придают диссертационной работе законченность, усиливают её информативность. Особый интерес представляет детальное исследование гиперполяризационных токов, природа и участие которых в регуляции деятельности сердца пока еще до конца не выяснена. Автор использует модельный подход в своей экспериментальной работе, однако применение различных методик, подробный анализ регистрируемых процессов дают возможность представить механизм работы сердца в целом. Полученные результаты будут полезны при разработке критериев индивидуальных характеристик сердца у разных животных.

На основании полученных результатов сделано 5 выводов, которые логически вытекают из представленных данных. В целом автором диссертации сформулированы три теоретических положения, обладающих принципиальной новизной (с. 5-6).

Диссертация Лебедевой Е.А. представляет собой результат целенаправленного научного поиска. Автором продемонстрирована способность к самостоятельной исследовательской работе и анализу полученных фактов.

**Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации.**

Полученные результаты могут быть внедрены в работу лабораторий, занимающихся исследованием механизмов регуляции функций сердца в возрастном аспекте, а также в учебный процесс ВУЗов при изучении вопросов физиологии сердечно-сосудистой системы. Полученные данные необходимо использовать для правильной трактовки результатов фармакологических и физиологических исследований на сердечно-сосудистой системе различных лабораторных животных. Материал исследований заслуживает внимания со стороны специалистов нормальной физиологии, физиологии сердца и кардиологии.

Результаты исследования нашли отражение в 14 научных работах, 4 из них опубликованы в научных рецензируемых журналах, определенных Высшей аттестационной комиссией.

Автореферат достаточно полно отражает содержание диссертации. В целом диссертация изложена научным литературным языком, принципиальных замечаний ни по форме, ни по содержанию не вызывает. Однако по ходу обсуждения диссертации возникли некоторые вопросы и замечания.

Вопросы.

1) Какой смысл Вы вкладываете в понятие «морфология потенциала действия»?

2) В исследовании использован фармакологический анализ. Можно ли быть уверенным в специфичности эффектов применяемых агентов на Вашем препарате, учитывая гетерогенность рецепторов и возможность их локализации в различных субмембранных компартментах, где рецепторы могут быть вовлечены в разные регуляторные каскады?

3) В разделе «Заключение» Вы высказываете предположение, что на основании полученных результатов вклад натриевого тока в фазу быстрой деполяризации и фазу медленной деполяризации различен, приводятся цифры 30-35% для клеток-истинных водителей ритма, 50-55% для клеток «скрытого» типа, а участие натриевого тока при формировании фазы 4 – 10-15%. В каких единицах Вы это измеряли и каковы эти величины?

Замечания:

1) Текст несколько перенасыщен перечислением цифрового материала, что затрудняет восприятие и понимание смысла. Вполне достаточно таблиц и иллюстраций.

2) Нумерация рисунков 4.2.2 – с.103, 4.4.2 – с.96 и 4.2.1 несколько не совпадает с описанием в тексте.

3) Встречаются невыправленные опечатки, неудачные выражения (напр., на с.11, 13, 14, 25). Однако указанные замечания не являются принципиальными и не снижают общего положительного впечатления о работе.

### Заключение.

Таким образом, диссертация Лебедевой Елены Александровны на тему: «Роль ионов натрия в морфологии потенциалов действия клеток синусно-предсердного узла у мыши и кролика», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченной, самостоятельно выполненной на современном методическом уровне научно-квалификационной работой, направленной на решение ряда научных задач в области физиологии сердца.

По своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости диссертационная работа Елены Александровны Лебедевой отвечает требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук (пункт №9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842), а сам автор

заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01- физиология.

Отзыв составлен доктором биологических наук, профессором кафедры общей физиологии Т.А. Сафоновой.

Отзыв заслушан и одобрен на заседании кафедры общей физиологии биологического факультета Санкт-Петербургского государственного университета (протокол №4 от 25.04.2016 г.).

Заведующий кафедрой  
общей физиологии СПбГУ,  
доктор биологических наук



А.Г. Марков

*Личная подпись  
А.Г. Маркова  
удостоверена*

ЗАМЕСТИТЕЛЬ НАЧАЛЬНИКА  
УПРАВЛЕНИЯ КАДРОВ СПбГУ  
Н. К. КОРЕЛЬСКАЯ

*06.05.2016*





ПРАВИТЕЛЬСТВО РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ  
БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ

«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
(СПбГУ)

Университетская наб., 7/9, Санкт-Петербург, 199034  
тел./факс 328-97-88  
http://www.spbu.ru  
ОКПО 02068516 ОГРН 1037800006089  
ИНН/КПП 7801002274/780101001

Председателю диссертационного  
совета Д 004.017.02 на базе  
ФГБУН «Институт физиологии»  
Коми НЦ УрО РАН  
Д.Н. Шмакову

27.04.2016 № 01-45-2819

на № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

О согласии

Уважаемые коллеги!

В ответ на Ваше обращение (исх. ИФ от 05.04.2016 № 17648/102) подтверждаю согласие Санкт-Петербургского государственного университета выступить ведущей организацией по диссертации Е.А. Лебедевой на тему: «Роль токов ионов натрия в морфологии потенциалов действия клеток синусно-предсердного узла у мыши и кролика», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология, и направляю сведения о Санкт-Петербургском государственном университете как ведущей организации, а также сведения о лице, утверждающем отзыв ведущей организации на данную диссертацию.

- Приложение: 1. Сведения о ведущей организации — на 2 л. в 1 экз.  
2. Сведения о лице, утвердившем отзыв ведущей организации — на 1 л. в 1 экз.

Директор Центра экспертиз

Л.А. Цветкова

Исполнитель:  
Н.Ю. Климова,  
Тел.: (812) 327-46-15

### Сведения о ведущей организации

по кандидатской диссертации Е.А. Лебедевой «Роль токов ионов натрия в морфологии потенциалов действия клеток синусно-предсердного узла у мыши и кролика», по специальности 03.03.01 – физиология

Полное наименование организации в соответствии с уставом	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»
Сокращенное наименование организации в соответствии с уставом	Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербургский университет или СПбГУ
Ведомственная принадлежность	Правительство Российской Федерации
Почтовый индекс, адрес организации	199034, Санкт-Петербург, Университетская наб. д.7/9
Адрес официального сайта в сети «Интернет»	www.spbu.ru
Телефон	+7 (812) 328-97-01
Адрес электронной почты	spbu@spbu.ru
Список основных публикаций работников ведущей организации по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет	<p>1. Журавлев В.Л., Сафонова Т.А. Физиология сердечно-сосудистой системы. Изд-во Санкт-Петербург. ун-та, 2011, 144 с.</p> <p>2. Кодиров С.А., Сафонова Т.А., Журавлев В.Л., Курилова Л.С., Крутецкая З.И. Суперсемейство потенциалозависимых калиевых каналов: структура, функции и патологии. Цитология, 2010, т.52, №9, с.697-714.</p> <p>3. Шумилова Т.Е., Шерешков В.И., Январева И.Н., Ноздрачев А.Д. Особенности электрогенеза миокарда у лабораторных крыс в условиях острой нитритной интоксикации. Журнал эволюционной биохимии и физиологии, 2010, т.46, №2, с.148-156.</p> <p>4. Кравцова В.В., Михайлов В.М., Соколова А.В., Михайлова Е.В., Тимонина Н.А., Никольский Е.Е., Кривой И.И. Восстановление электрогенеза скелетной мышцы после клеточной терапии миодистрофии у мышей mdx. Доклады Академии Наук. 2011. 441 (2): 272–274</p> <p>5. Кривой И.И. Регуляторная функция <math>\alpha 2</math>-</p>

изоформы Na,K-АТФазы. Биофизика. 2012. 57 (5): 771–788.

6.Кравцова В.В., Петров А.М., Васильев А.Н., Зефирова А.Л., Кривой И.И. Роль холестерина в поддержании электрогенеза концевых пластинок диафрагмы крысы. Бюлл. exper. биол. и мед. 2014. 158 (9): 275-279.

7.Кривой И.И. Функциональные взаимодействия Na,K-АТФазы с молекулярным окружением. Биофизика. 2014. 59 (5): 871-882.

8.Chibalin A.V., Heiny J.A., Benziane B., Prokofiev A.V., Vasiliev A.N., Kravtsova V.V., Krivoi I.I. Chronic nicotine exposure modifies skeletal muscle Na,K-ATPase activity through its interaction with the nicotinic acetylcholine receptor and phospholemman. PLoS ONE. 2012. 7(3): e33719.

9.Kravtsova V.V., Matchkov V.V., Bouzinova E.V., Vasiliev A.N., Razgovorova I.A., Heiny J.A., Krivoi I.I. Isoform-specific Na,K-ATPase alterations precede disuse-induced atrophy of rat soleus muscle. Biomed Res Int 2015. 720172. doi: 10.1155/2015/720172.

10.Matchkov V.V., Kravtsova V.V., Wiborg O., Aalkjaer C., Bouzinova E.V. Chronic selective serotonin reuptake inhibition modulates endothelial dysfunction and oxidative state in rat chronic mild stress model of depression. Am. J. Physiol. – Regul. Integr. Comp. Physiol. 2015. 309(8): R814-R823.

11.Мельницкая А.В., Крутецкая З.И., Бутов С.Н., Крутецкая Н.И., Антонов В.Г. Деполимеризатор микротрубочек нокодазол и ингибитор везикулярного транспорта брефельдин А подавляют эффект глутоксима на транспорт Na<sup>+</sup> в коже лягушки. Биофизика. 2014. Т. 59. N5. С. 883-886.

12.Melnitskaya A.V., Krutetskaya Z.I., Butov S.N., Krutetskaya N.I., Antonov V.G. Disulfide-containing drug glutoxim modulates Na<sup>+</sup> transport in frog skin. FEBS J. 2013. V. 280 (Suppl. 1). P. 363-364.

Верно

Директор Центра экспертиз



Л.А. Цветкова

ПОДПИСЬ  
М.П.

**Сведения о лице, утвердившем отзыв ведущей организации**

Фамилия, имя, отчество	Туник Сергей Павлович
Ученая степень и отрасль науки, научные специальности, по которым им защищена диссертация	Доктор химических наук 02.00.01 – Неорганическая химия Химические науки
Наименование организации, являющееся основным местом работы, должность	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет» Правительства Российской Федерации. Проректор по научной работе. Профессор кафедры общей и неорганической химии.

Верно

Директор Центра экспертиз

  
Л.А. Цветкова

подпись  
М.П.

