

## ОТЗЫВ

официального оппонента КОЛПАКОВА Аркадия Ростиславовича на диссертационную работу Мейта Екатерины Сергеевны «Участие пуринергической системы в формировании термозащитных реакций при действии холода на организм», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Познание механизмов реагирования и адаптации организмов к меняющимся условиям окружающей среды была, есть и всегда будет актуальной задачей человечества. Переходя от социального уровня к уровню организма, затем системам органов, органу, отдельной клетке и углубляясь в биохимические и биофизические процессы, происходящие в последней, исследователи делают открытия, которые опровергают устоявшиеся взгляды и рожают новые проблемы. Так было с оксидом азота, оксидом углерода, сероводородом, аммиаком – признанными конечными продуктами метаболизма, ставшими за последние годы важными участниками физиологических процессов.

Выделение из окончаний вегетативных нервных волокон, наряду с норадреналином и ацетилхолином, ещё и аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ), обнаруженное более полувека назад, которая также проявляет свойства медиатора и действует на специфические пуринергические рецепторы, стало целым направлением в биологии. Последующее открытие около двух десятков таких рецепторов и изучение их функций послужило основой для применения АТФ, хотя на первых порах и во многом эмпирического, в клинике внутренних и нервных болезней.

Однако роль АТФ и пуринергических рецепторов в адаптационных процессах организма, в частности, в физиологии терморегуляции остаётся малоизученной. Достаточно сказать, что проблеме «пуринергические рецепторы и терморегуляция» за 40 лет посвящены лишь отдельные публикации, и отрадно, что среди них есть работа, вышедшая из лаборатории терморегуляции НИИ Физиологии и фундаментальной медицины. Среди авторов – диссертант Е.С.Мейта. Активация симпатической нервной системы, важная роль норадреналина при холодовом воздействии установлена и подтверждена многими исследованиями, в то же время, наличие у норадреналина со-трансммиттера в симпатическом окончании значительно усложняет сложившуюся картину понимания реакции организма на охлаждение.

Поэтому **актуальность** работы Е.С.Мейта, ставящей **целью** своего диссертационного исследования изучение роли пуринергической системы в формировании терморегуляторных реакций гомойотермного организма на холод, **не вызывает сомнений**.

**Новизна работы.** Впервые в эксперименте установлено, что АТФ усиливает холодовую мышечную активность и уменьшает температурный порог её инициации, что отличает АТФ от норадреналина, эффект которого в большей степени проявляется стимуляцией несократительного термогенеза и сосудосуживающим действием. Механизм усиления мышечного термогенеза АТФ, как показали исследования Е.С.Мейта, связан со стимуляцией P2X рецепторов. Автором выявлено участие P2X рецепторов также и в афферентном звене терморегуляторного ответа – регуляции температурных порогов термозащитных реакций

Диссертация изложена на 156 страницах, содержит 15 рисунков и 16 таблиц, состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы», главы 3 с результатами исследований, обсуждения результатов исследования, выводов, списка цитируемой литературы (495 источников). Материалы диссертации доложены на крупных Российских и международных конференциях. Автор имеет 12 публикаций по теме работы, в том числе, 3 статьи в отечественных журналах, рекомендуемых ВАК, и одна в иностранном журнале.

Во введении обоснована актуальность разрабатываемой темы, представлены цель и задачи исследования, положения, выносимые на защиту, новизна, теоретическая и практическая значимость работы.

Обзор литературы (40 стр.) состоит из двух частей. Первая касается общих механизмов терморегуляторных реакций организма в ответ на охлаждение. Вопреки устоявшимся взглядам, Е.С.Мейта не ограничилась литературой последнего десятилетия, а включила и классические работы отечественных и иностранных авторов. Обзор написан хорошим языком, интересен и показывает, что автор хорошо ориентируется в этой области физиологии. Но главной задачей обзора литературы диссертации всё-таки является постановка проблемы, за решение которой приступает соискатель.

Вторая часть рассматривает состояние изученности проблемы, которой посвящена диссертация. Она называется «Роль АТФ и пуринергической нервной системы в организме». Здесь можно не согласиться с автором. Правильнее, всё-таки было бы говорить о рецепторах, не выделяя пока отдельную нервную систему: ведь Е.С.Мейта приводит данные об АТФ как о ко-медиаторе и симпатического, и парасимпатического медиаторов, кроме того, имеется большое количество пуринергических рецепторов, не связанных непосредственно с нервными окончаниями.

Работая над этим разделом обзора, Е.С.Мейта столкнулась с определёнными сложностями. Дело в том, что работы по изучению пуринергических рецепторов проводились и проводятся на разных объектах, тканях (клетки иммунной системы,

нейроны ЦНС, сосудистые стенки, гладкомышечные органы) в основном, *in vitro*. При всём обилии публикаций по этой тематике, работ, касающихся участия пуринаргических рецепторов в терморегуляции у пойкилотермных организмов, очень мало. Поэтому автор включила в обзор и статьи, хотя бы косвенно указывающие на проблему её исследований. Однако вряд ли была необходимость приводить в обзоре 31 работу G.Burnstock, достаточно было ограничиться основными несколькими публикациями этого основоположника и ведущего мирового специалиста в области изучения пуринаргических систем. В то же время, поскольку в диссертационном исследовании предполагалось использование пиридоксальфосфат-6-азо-фенил-2,4-дисульфоновой кислоты (PPADS)-блокатора пуринаргических рецепторов, следовало больше уделить внимания свойствам этого соединения.

Заканчивается обзор литературы небольшим заключением, в котором говорится: «Имеются немногочисленные и противоречивые факты, свидетельствующие о возможном влиянии АТФ как медиатора на регуляцию различных функций в гомеотермном организме». Я не нашёл противоречий в приведённых фактах и полностью согласен, что проблема участия пуринаргической системы в терморегуляторных процессах ещё далеко не исследована, что открывает широкие перспективы её изучения.

Глава 2 «Материалы и методы исследования» (стр. 50 - 56) свидетельствует о высокой разносторонней профессиональной подготовленности Е.С.Мейта. Отличие данной работы от большинства других исследований пуринаргических систем в том, что она выполнена в условиях целого организма (крысы Вистар). Это накладывает особую ответственность на экспериментатора за чистоту подготовки опыта и соблюдение принципов гуманности при обращении с животными. В главе прослеживается логика постановки экспериментов, даётся подробное описание методик и оборудования, используемых диссертантом. Выбранные методические подходы и адекватный набор статистических методов позволили решить поставленные задачи. При описании методик даётся пояснение, при решении каких задач они были использованы. Однако в этом разделе автор не привела обоснования выбора используемых концентраций АТФ (0,001 мг/мл, 10 мг/мл и 50 мг/мл!) для ионофореза, концентрации и дозы PPADS и способа его введения экспериментальным животным. Не говорится и об использованном в эксперименте норадреналине. Конечно, в этом разделе не помешало бы представить и дизайн исследований.

Результаты экспериментов представлены автором в главе 3 (стр.57 – 93). Обращает на себя внимание последовательность и скрупулёзность их выполнения. Изучение влияния АТФ при ионофоретическом введении в термонеutralных условиях показало

увеличение потребления кислорода организмом и уменьшение величины дыхательного коэффициента. Отсутствие разницы в эффектах взятых концентраций АТФ позволяет говорить о триггерном, а не о метаболическом действии аденозинтрифосфата, и это дало возможность в дальнейшем использовать малые концентрации АТФ.

Важным методическим подходом в работе является разграничение реакции организма на глубокое охлаждение на две метаболические фазы: срочную, характеризующуюся повышением дыхательного коэффициента, и вторую, которая развивается на фоне падения глубокой температуры тела и проявляется снижением дыхательного коэффициента и увеличением мышечной активности. Под влиянием АТФ увеличивалось потребление кислорода в обе фазы метаболической реакции на холод, а также снижался порог инициации мышечного термогенеза, и возрастала величина этой реакции. При этом в данных исследованиях изменений констрикторной реакции сосудов кожи исследователь не обнаружила.

Следующим этапом стало сравнительное изучение действия норадреналина (НА) с эффектами АТФ на терморегуляторные параметры, а также при их совместном ионофоретическом введении. Эксперименты с использованием норадреналина подтвердили известные ранее его способности повышать тонус сосудов и стимулировать несократительный термогенез. В отличие от АТФ, норадреналин не влиял на электрическую активность мышц и, соответственно, на сократительный термогенез. При совместном применении АТФ и НА по совокупной реакции на охлаждение наблюдался синергизм их действия, и, хотя преобладали эффекты норадреналина, но электрическая активность мышц не возрастала, как в экспериментах с АТФ.

Интересные и неоднозначные результаты получены с использованием блокатора пуриnergических рецепторов пиридоксальфосфат-6-азо-фенил-2,4-дисульфоновой кислоты (PPADS), который вводили и внутрибрюшинно, и с помощью ионофореза. В термонеutralных условиях при обоих способах введения наблюдалось снижение дыхательного коэффициента, но температурные показатели и электрическая активность мышц не изменялась. При холодом воздействии в зависимости от способа введения PPADS оказывал различное влияние на терморегуляторный ответ. При ионофорезе отмечалось снижение температурных порогов всех холодозащитных реакций, внутрибрюшинное введение угнетало мышечный термогенез. По ряду показателей при совместном применении АТФ и PPADS совпадали. Антагонизм между лигандом пуриnergических рецепторов (АТФ) и их блокатором проявлялся именно в отношении термогенной мышечной активности: угнетающее действие PPADS уменьшалось. Эти факты могут быть объяснены широким участием пуриnergических рецепторов и его

лиганда на различных уровнях реагирования организма на охлаждение и относительной избирательностью PPADS, но, конечно, требуют дальнейшего и более углублённого изучения.

И Екатерина Сергеевна хорошо понимает всю сложность затронутой ею проблемы, видит перспективы дальнейших исследований. Это показывает глава «Обсуждение результатов» (стр.94 - 105). Автор всесторонне рассматривает полученные результаты, обоснованно сопоставляя их с имеющимися данными литературы, и делает логичные и закономерные выводы. Сделанные замечания носят рекомендательный (на будущее) характер. Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Таким образом, диссертация Мейта Екатерины Сергеевны «Участие пуринергической системы в формировании термозащитных реакций при действии холода на организм» по своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости полностью соответствует пунктам 9-14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842 (с изменениями в редакции постановлений РФ от 21 апреля 2016 года № 335 и 02 августа 2016 года № 748), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Официальный оппонент,  
профессор кафедры фармакологии,  
клинической фармакологии  
и доказательной медицины  
ФГБОУ ВО НГМУ МЗ РФ  
д.м.н., профессор



А.Р.Колпаков

Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего образования  
«Новосибирский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Почтовый адрес: 630091, Новосибирск, Красный проспект, 52  
тел.: +7 (383) 222-32-04, e-mail: rector@ngmu.ru

