

ОТЗЫВ

На диссертацию Руденко Натальи Сергеевны «РЕГУЛЯЦИЯ ПЕПТИДНЫМИ ГОРМОНАМИ СЕРДЦА ГЕМОДИНАМИЧЕСКОЙ СТРЕСС-РЕАКЦИИ у НОРМОТЕНЗИВНЫХ КРЫС И КРЫС С НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИНДУЦИРОВАННОЙ СТРЕССОМ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПERTЕНЗИЕЙ (НИСАГ)», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология

Диссертация Н.С. Руденко посвящена исследованию механизмов накопления в клетках, секреции и физиологической роли натриуретического и вазодилататорного фактора предсердного происхождения – атриального натриуретического пептида (АНП). Исследование АНП выполнено в эксперименте с использованием двух линий крыс: нормотензивных крыс линии WAG и гипертензивных крыс с наследственно индуцированной стрессом артериальной гипертензией (НИСАГ). Гипертензивные крысы выведены в Институте цитологии и генетики СО РАН путем селекции на основе аутбредной линии Вистар, отбор происходит по высокой индивидуальной чувствительности животных к стрессирующему воздействию. Крысы НИСАГ являются признанной моделью эссенциальной гипертонической болезни. Проведение эксперимента на крысах этой линии оправдано интересом к антигипертензивным системам, роль и значимость которых в развитии и стабилизации высокого артериального давления остается неясной.

У нормотензивных и гипертензивных крыс проведено сравнение содержания и степени зрелости гранул, содержащих АНП, концентрации АНП в периферической крови и ряда параметров водно-солевого обмена, значимых в развитии артериальной гипертензии. Вполне оправдан и выбор эндокринных клеток миокарда в качестве объекта исследования, т.к. максимальные количества АНП секретируются именно из правого предсердия сердца. Убедительно продемонстрированы отличия, характеризующие функциональные и структурные изменения у крыс с наследственной гипертензией по сравнению с нормотензивными, часть полученных результатов впервые демонстрирует нарушения ряда параметров водно-солевого обмена у гипертензивных крыс.

В качестве функциональной пробы для оценки реактивности антигипертензивной системы использована дозированная иммобилизация, которая традиционно применяется как мощный стрессирующий фактор для подвижных

животных. Полученные результаты свидетельствуют о том, что на фоне односторонности изменений у крыс двух линий, значимость этих изменений в темпе синтеза, секреции и концентрации АНП в периферической крови у крыс с наследственной гипертензией значительно ниже. Эти данные представляются важными для обоснования и коррекции несостоятельности антигипертензивных систем организма в стабилизации высокого артериального давления.

Актуальность исследования Н.С. Руденко не вызывает сомнений не только по причине широкой распространенности заболевания и достоверного в настоящее время «омоложения» нозологической формы, но и потому, что устоявшееся мнение о генетической предрасположенности к заболеванию практически не подкреплено конкретными механизмами реализации этой предрасположенности. В соответствии с этим чрезвычайно интересным является изучение этапов синтеза и секреции одного из антигипертензивных факторов, регуляции его секреции и нарушения этих процессов в становлении артериальной гипертензии, выполненное на двух линиях крыс, одна из которых является линией с наследственно индуцированной артериальной гипертензией. В практическом отношении возможность, зная механизмы регуляции, оказать влияние на темп секреции АНП открывает, пусть и отдаленные, перспективы активации антигипертензивных систем у лиц с предрасположенностью к артериальной гипертензии. Следует отметить, что полученные в работе Н.С. Руденко данные о ряде параметров водно-солевого гомеостаза у крыс линии НИСАГ получены впервые. Эти результаты дают дополнительные сведения о механизмах развития артериальной гипертензии у крыс этой уникальной линии, которая успешно используется в научных исследованиях.

Структура и характеристика работы. Диссертация построена по традиционной схеме включает введение, обзор литературы, главу с описанием материалов и методов исследования, результатов и их обсуждения, завершается выводами. Работа изложена на 101 странице, содержит 27 рисунков и 4 таблицы. Список литературы включает 154 источника, из них 100 иностранных.

Во введении убедительно и обоснованно заявлена актуальность исследования физиологической роли АНП как натриуретического и гипотензивного фактора, роль которого в стабилизации высокого артериального давления при артериальной гипертензии остается до конца не ясной, сформулированы цель и задачи исследования.

Задачи вполне соответствуют заявленной цели, позволяют достичь ее, структурированы по этапам работы и дизайну эксперимента.

В обзоре литературы приведены современные, следует отметить, что не очень многочисленные сведения о типах натриуретических пептидов, местах их выработки, установленным и гипотетическим механизмам стимуляции секреции пептидов. Обоснован выбор предсердного пептида, как наиболее значимого натриуретического фактора. Автор останавливается на механизмах действия АНП, дает краткую характеристику рецепторам и возможным пострецепторным внутриклеточным процессам в реализации эффекта пептида. Основное внимание в обзоре литературы автор, в соответствии с поставленной целью, уделяет характеристике секретирующих клеток миокарда, описанию и классификации гранул с биологически активным веществом. Подробно описаны известные особенности структуры клеток миокарда у крыс исследованных линий, этапы синтеза, активации и накопления пептида в гранулах и нарушение этих этапов у крыс линии НИСАГ. Автор подробно останавливается на характеристике стресса, как общего адаптационного синдрома, приводит перечень наиболее значимых в реализации стресса гормональных систем, однако их роль в повышении артериального давления отражена недостаточно. Кроме того, в этой части обзора литературы заявлена роль ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, как одной из стресс-реализующих, но ни ее роли в реализации стресса, ни в дальнейшем в обсуждении результатов не представлено.

В главе материалы и методы четко описан дизайн исследования: две линии крыс, исследованы в исходном состоянии и после дозированного стрессирующего воздействия. Перечислены параметры, которые оценивались. Следует отметить, что автором удачно выбраны исследуемые параметры, именно те, которые характеризуют состояние водно-солевого обмена, те структуры миокарда, которые связаны с синтезом и секрецией исследуемого АНП. Не секрет, что в последнее время, с появлением новых высокотехнологичных приборов и методов, ряд исследователей стремится неоправданно расширить количество определяемых параметров, оставляя большую их часть без обсуждения.

Подробно описана процедура морфологических исследований, указано, что для исследования отбирали ткань ушка правого предсердия, описана процедура фиксации. Полутонкие поперечные срезы (около 1 мкм), с правильной ориентацией кусочка ткани

миокарда (для получения поперечных срезов клеток) окрашенные толуидиновым синим, просматривали в микроскопе при увеличении объектива $\times 40$ и фотографировали. Ультратонкие продольные срезы миокарда (около 50 нм) контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца, просматривали в электронном микроскопе JEM-1400 и фотографировали камерой Veleta 4 Mpxl. Стереоморфометрию проводили в пакете iTEM5.1 (Olympus, Япония).

Подробно и обоснованно описан алгоритм ультраструктурного исследования продольных срезов миоэндокринных клеток, включающий определение абсолютных размеров клеток, определение относительных долей основных органоидов, определение суммарного объема пластинчатых комплексов клетки, изучение качественного состава гранул с выделением зрелых, формирующихся, растворяющихся и атипичных форм. На электронных микрофотографиях каждую гранулу относили к какой-либо из описанных категорий, определяли ее диаметр и подсчитывали общее количество гранул на той площади цитоплазмы миоэндокринной клетки, которая попала в срез. Можно сделать вывод о том, что соискатель более чем уверенно владеет методами гистологических исследований, начиная с забора материала и его фиксации до электронной микроскопии и морфометрии.

Результаты исследования изложены в соответствии с программой исследования: сравнение изученных показателей у крыс линии WAG в исходном состоянии и после стрессирующего воздействия, сравнение показателей у крыс двух линий и сравнение показателей у крыс линии НИСАГ в исходном состоянии и после стрессирующего воздействия. Данные представлены в виде таблиц и диаграмм, легко воспринимаются. В первом разделе главы убедительно показаны морфологические изменения в миокарде в ответ на стрессирующее воздействие, которые отражают наступивший отек интерстиция миокарда, значительные изменения в морфологии органелл клеток с признаками накопления ионов кальция в цитоплазме, изменение соотношения гранул различной зрелости. Эти морфологические изменения сопровождаются существенным снижением как синтеза, так и в большей степени, секреции АНП в кровь. Полученные результаты свидетельствуют о напряжении при функциональной нагрузке натриуретической системы организма и ее несостоятельности как антигипертензивной.

Дальнейший анализ полученных результатов свидетельствует о том, что все отмеченные изменения в ответ на дозированное стрессирующее воздействие у крыс

линии НИСАГ сходны с выявленными у нормотензивных крыс. Однако, на фоне более высокой функциональной активности в исходном состоянии, реактивность системы натриуреза у крыс НИСАГ значительно ниже. Эти данные представляются чрезвычайно важными в аспекте изучения патогенеза артериальной гипертензии, поскольку способны в определенной степени переключить внимание исследователей с несостоятельности в деятельности антигипертензивных систем на значимые функциональные и структурные нарушения в миокарде и стенках сосудов.

Обсуждение результатов проведено корректно и сосредоточено преимущественно на морфологических особенностях миокарда экспериментальных животных. Вместе с тем, было бы неплохо обсудить причины обнаруженных структурных изменений с привлечением информации о деятельности регуляторных систем организма. В частности, роль заявленной ренин ангиотензин альдостероновой системы как стресс-реализующей осталась вне обсуждения, хотя в основе увеличения объема циркулирующей крови и выраженного отека интерстиция лежат свои физиологические механизмы. Чрезвычайно полезной была бы, пусть и гипотетическая, схема взаимодействия стресс-реализующих и антинатриуретических систем организма в реализации обнаруженных структурных изменений миокарда. Это замечание, с учетом поставленных в работе задач, является скорее пожеланием и не умаляет достоинств диссертации, достоверности и ценности полученных результатов.

Традиционно наиболее интересными являются такие исследования, в результате которых появляются новые вопросы. Результаты, полученные Натальей Сергеевной, открывают несколько направлений изучения механизмов патогенеза артериальной гипертензии, например, каковы стимулы и механизмы увеличения темпа синтеза пептида и увеличения числа гранул, каковы механизмы торможения секреции АНП, хотя есть основной стимул, увеличение объема циркулирующей крови.

Заключение: диссертация Руденко Натальи Сергеевны «Регуляция пептидными гормонами сердца гемодинамической стресс-реакции у нормотензивных крыс и крыс с наследственной индуцированной стрессом артериальной гипертензией (НИСАГ)», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является завершенной, самостоятельной научно-квалификационной работой, содержащей решение актуальной задачи – морфофункциональная характеристика натриуретической системы организма. Работа выполнена на высоком методическом уровне, соответствующем поставленным задачам, результаты корректно обработаны методами математической статистики, выводы соответствуют поставленным задачам и вытекают

из полученных результатов и их обсуждения, научная новизна так же соответствует результатам исследования. Считаю, что диссертация Н.А. Руденко соответствует требованиям ВАК РФ, а автор заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Официальный оппонент:

Профессор кафедры нормальной физиологии
и основ безопасности жизнедеятельности
ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России
д-р биологических наук



ОТДЕЛ
КАДРОВ

