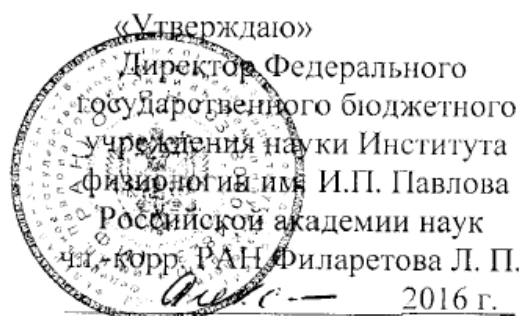


ФАНО РОССИИ
Федеральное
государственное
бюджетное
учреждение науки
Институт физиологии
им. И.П. Павлова
Российской
академии наук
(ИФ РАН)

199034, Санкт-Петербург
наб. Макарова, 6
тел. (812) 328-0701
тел. (812) 328-1101
факс (812) 328-0501
E-mail: ich@ifiran.ru

04.04.16 № 2115/ссл - 170

На № _____ № **ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ**



на диссертационную работу Евтушенко Анны Александровны «Функциональные изменения активности генов термочувствительных TRP ионных каналов при температурных воздействиях на организм в норме и при артериальной гипертензии», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Актуальность диссертационной работы. Температура является неотъемлемым и важным фактором существования человека и животных. Изменение температуры сопровождается изменением функционирования многих физиологических систем живого организма.

В настоящее время интенсивно ведутся исследования, касающиеся клеточных и молекулярных механизмов температурной чувствительности. На роль ее молекулярной основы претендуют термочувствительные TRP ионные каналы: два холодочувствительных, активирующихся при понижении температуры – TRPA1 и TRPM8, а также 4 теплочувствительных, которые активируются при повышении температуры – TRPV1, TRPV2, TRPV3 и TRPV4. Все вместе они охватывают диапазон температур, воспринимаемых большинством млекопитающих. Проблемам терморегуляции с позиции интегрирования молекулярного и организменного уровня пока не уделялось достаточного внимания. Генетические механизмы температурной чувствительности также являются совершенно неисследованной областью. Исследования процессов, опосредованных TRP ионными каналами при температурных воздействиях, активно ведутся на культурах клеток, однако,

функциональная роль этих ионных каналов в реакциях целого организма остается неясной. Поэтому вопросы, касающиеся температурной чувствительности, как на периферии, так и в центральных структурах, участия в этом различных TRP каналов, а также вовлеченность геномного уровня в регуляцию температурного гомеостаза остаются открытыми.

Артериальная гипертензия, характеризующаяся стойким повышением артериального давления, является одним из самых распространенных заболеваний. Наличие у теплокровного организма повышенного артериального давления ведет к изменению его реакций на температурные воздействия. Однако сведения о функционировании терморегуляторной системы при артериальной гипертензии немногочисленны и противоречивы. Остаются не до конца выясненными механизмы поддержания температурного гомеостаза, в том числе возможное участие термочувствительных TRP ионных каналов в системе температурного гомеостаза при артериальной гипертензии.

В связи с этим можно говорить об актуальности данной диссертационной работы. Диссертация А.А. Евтушенко посвящена изучению роли термочувствительных TRP ионных каналов в механизмах терморегуляции при температурных воздействиях на организм в норме и при артериальной гипертензии, объединяет молекулярно-генетический и организменный уровень исследования.

Целью диссертационного исследования было выявить функциональные изменения активности (экспрессии) генов термочувствительных TRP ионных каналов при температурных воздействиях на организм в норме и при артериальной гипертензии

Научная новизна работы. Впервые проведено сопоставление и показана неравнозначная экспрессии генов термочувствительных TRP ионных каналов в различных структурах мозга. Экспрессия термочувствительных TRP ионных каналов в мозге выше, чем экспрессия генов холодочувствительных TRP каналов. В функционально различных отделах гипоталамуса – переднем и заднем, наблюдаются различия в экспрессии генов TRP ионных каналов: в переднем

гипоталамусе повышена экспрессия холодочувствительного ионного канала TRPM8, в заднем отделе гипоталамуса наблюдается более высокая экспрессия генов теплочувствительного ионного канала TRPV1 и, реагирующего на болевые низкие температуры, ионного канала TRPA1.

Впервые показана вовлеченность геномного уровня регуляции при температурных воздействиях как длительных, так и острых. Длительная адаптация организма к холоду приводит к специфичным для гипоталамуса изменениям – снижению экспрессии гена ионного канала TRPV3, тогда как острое охлаждение приводит к повышению экспрессии гена ионного канала TRPV3.

Впервые установлено, что наследственная стресс-индуцированная артериальная гипертензия сопровождается изменением экспрессии генов TRP ионных каналов в центре регуляции висцеральных функций – гипоталамусе, так экспрессия гена холодочувствительного ионного канала TRPM8 снижена в переднем отделе гипоталамуса, а экспрессия гена теплочувствительного TRPV4 ионного канала повышена в заднем отделе гипоталамуса. Изменение экспрессии генов затрагивают также и периферические висцеральные органы – в селезенке наблюдается значительное снижение экспрессии генов холодочувствительных ионных каналов TRPM8 и TRPA1.

Впервые показано функциональное взаимодействие TRP ионных каналов периферической и центральной нервной системы на уровне изменения экспрессии генов. Активация периферического ионного канала TRPM8 его агонистом ментолом приводит к сходным с острым охлаждением изменениям в экспрессии генов TRP ионных каналов. У нормотензивных животных наблюдается в том и другом случае повышение экспрессии гена ионного канала TRPV3 в заднем отделе гипоталамуса. У гипертензивных животных, имеющих исходно сниженную экспрессию гена *Trpm8*, активация периферического кожного ионного канала TRPM8, как и охлаждение, приводит к значительному увеличению экспрессии гена *Trpm8* в переднем отделе гипоталамуса.

Впервые показано, что снижение экспрессии гена холодочувствительного ионного канала TRPM8 у гипертензивных животных сопровождается и функциональными изменениями реакции организма на холод. У гипертензивных животных, в отличие от нормотензивных, активация ионного канала TRPM8 его агонистом ментолом не вызывает уменьшения температурных порогов терморегуляторных реакций при медленном глубоком охлаждении.

Теоретическая и научно-практическая значимость работы. Настоящая работа объединяет молекулярно-генетический и организменный уровни исследования функциональной роли термочувствительных TRP ионных каналов. Полученные новые знания расширяют представления о геномном уровне регуляции и участии термочувствительных TRP каналов в формировании термозащитных реакций при действии холода на организм, позволяют приблизиться к пониманию физиологического значения этих каналов, а также молекулярных механизмов поддержания температурного гомеостаза в норме и при такой патологии как артериальная гипертензия. Кроме того полученные данные могут представлять собой платформу для планирования экспериментов, направленных на дальнейшее выяснение физиологической роли этих ионных каналов. Полученные данные используются в курсе лекций «Физиология сенсорных систем» для студентов факультета естественных наук Новосибирского Государственного Университета.

Структура и объем работы. Диссертационная работа имеет традиционную структуру, изложена на 158 страницах печатного текста, включает введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты, обсуждение результатов, выводы, список цитируемой литературы (433 источника). Работа, содержит 24 рисунка и 21 таблицу.

Во введении показана актуальность выполненной работы, сформулированы цель и задачи, изложена научная новизна и практическая значимость полученных результатов, обоснованы основные положения, выносимые на защиту. Приведены сведения об апробации основных результатов диссертации, полноте их отражения в публикациях.

В первой главе, посвященной обзору литературы, автор достаточно полно описывает основные принципы терморегуляции, а также приводит современные данные, касающиеся молекулярных механизмов терморцепции. В главе также отражены данные о заболевании – артериальная гипертензия, автор приводит характеристику основных экспериментальных моделей животных для изучения этого заболевания, а также описывает особенности терморегуляторной системы при артериальной гипертензии.

Использованные в работе экспериментальные модели и методы достаточно четко и подробно описаны в соответствующем разделе диссертации. Это модели животных (линия Wistar, гипертензивная линия НИСАГ, нормотензивная линия WAG), различные модели температурного воздействия (длительное, острое), метод активации термочувствительных TRP ионных каналов, количественный метод ОТ-ПЦР для определения экспрессии генов.

В главе «Результаты исследований» приводятся полученные автором данные об экспрессии генов термочувствительных TRP ионных каналов в различных структурах мозга, в периферическом иммунокомпетентном органе – селезенке. Приводятся данные о влиянии наследственной индуцированной стрессом артериальной гипертензии на экспрессию генов TRP ионных каналов и терморегуляторные показатели в норме и при температурных воздействиях на организм.

В представленной работе впервые проведено сопоставление и показана неравнозначная экспрессии генов термочувствительных TRP ионных каналов в различных структурах мозга, в том числе центре регуляции висцеральных функций – гипоталамусе. Показано, что при холодовом воздействии на организм как длительном, так и остром, в поддержание температурного гомеостаза вовлечен геномный уровень регуляции активности термочувствительных TRP ионных каналов. Установлено, что наследственная, индуцированная стрессом артериальная гипертензия сопровождается изменением экспрессии генов термочувствительных TRP ионных каналов в гипоталамусе – центре регуляции висцеральных функций. Снижение экспрессии гена холодочувствительного

ионного канала TRPM8 у гипертензивных животных сопровождается функциональными изменениями реакции организма на холод.

Обсуждение полученных данных хорошо аргументировано и написано квалифицированно. Оно показывает, что автор владеет материалом, хорошо ориентируется в литературных данных.

Сделанные в работе выводы обоснованы, полностью отражают содержание работы и основные положения, выносимые на защиту. Работа выполнена на высоком научно-методическом уровне. Принципиальных замечаний нет.

Можно рекомендовать продолжить исследования в направлении сопоставления физиологических (функциональных) и молекулярных (изменение экспрессии генов - молекулярная функция) изменений.

Заключение.

Диссертационная работа Евтушенко Анны Александровны «Функциональные изменения активности генов термочувствительных TRP ионных каналов при температурных воздействиях на организм в норме и при артериальной гипертензии» представляет собой самостоятельную, законченную и оригинальную научно-исследовательскую работу, результаты которой будут способствовать решению важных теоретических и прикладных задач. По актуальности, новизне, объему, методическим подходам, научно-практической значимости и совокупности полученных результатов, работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» постановления Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор, А.А. Евтушенко, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Диссертация и отзыв на диссертацию Евтушенко А.А. обсуждены и одобрены на совместном заседании группы физиологии терморегуляции и биоэнергетики и лаборатории физиологии дыхания Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук».

Протокол № 2 от « 24 » марта 2016 г.



Арокина Н.К.
Виза

Арокина Надежда Константиновна,
доктор биологических наук, старший научный
сотрудник группы физиологии терморегуляции и биоэнергетики
ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова
Российской академии наук, arokina@mail.ru

Арокина

Ленинградская область, Всеволожский р-н, с. Павлово,
ул. Быкова, д.17, кв. 52, +7-911-760-2667

Подпись д.б.н., с.н.с. Арокиной Надежды Константиновны
заверяю