

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Шуйского Леонида Сергеевича на тему «Механизмы регуляции ионных каналов TRPC6 подоцитов в норме и при нефротических синдромах», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22 – «Клеточная биология»

Диссертационная работа Шуйского Л.С. посвящена анализу корреляционной связи активности  $\text{Ca}^{2+}$ -проницаемых ионных каналов TRPC6 и процесса гибели подоцитов, который рассматривается как ключевой фактор развития диабетической нефропатии. Работа выполнена в рамках сложной и во многом не разработанной проблемы патогенеза диабетической нефропатии в контексте роли каналопатии в этом процессе. Учитывая прикладную значимость обозначенной проблемы и важность академических исследований для уточнения и углубления современных представлений о механизмах нефропатии., исследование Шуйского Л.С., несомненно, является актуальным.

Автореферат диссертации Шуйского Л.С. хорошо изложен и иллюстрирован и дает ясное представление о целях и задачах работы, об ее методологии и ключевых результатах, полученных автором. В работе использовался широкий набор современных методов биологии и физиологии клетки, включая электрофизиологический метод patch clamp, микрофотометрию ( $\text{Ca}^{2+}$  imaging), иммуногистохимию, иммуноблоттинг, и гетерологическую экспрессию рекомбинантных ионных каналов. Использовалась верифицированная модель сахарного диабета 1го типа, который индуцировался у крыс линии DAN1 SS по определенному протоколу. Автору удалось показать, что индукция диабета инициирует патологические процессы в почках со многими признаками диабетической нефропатии. Ключевым в работе являлось способность автора выделять и сохранять активными подоциты, что в отличие от работы с культуральными клетками, является своего рода искусством. Все это позволило автору получить результаты достаточно высокого уровня. Как мне представляется, наиболее интересной, но оставшейся не детализированной, является связь состояния актинового цитоскелета и активности TRPC6. Эффективность использовавшейся методологии и научная ценность проведенных исследований несомненны. Достаточно сказать, что основополагающие результаты работы были представлены в ведущих международных научных журналах, включая Science Report, International Journal of Molecular Science, Journal of American Society of Nephrology, т.е. прошли достаточно жесткую научную экспертизу.

У меня нет принципиальных разногласий с автором в рамках материалов, изложенных в автореферате. Тем не менее, отмечу, что:

1. Использование  $\text{Mn}^{2+}$  для калибровки  $\text{Ca}^{2+}$  сигналов в подоцитах (Рис.4А) проведено некорректно. Дело в том, что  $\text{Mn}^{2+}$  не тушит Fluo-4, но связываясь с этим зондом, инициирует его флуоресценцию с эффективностью в 5 раз меньшей чем  $\text{Ca}^{2+}$ . Поэтому  $F_{\text{min}}$  в формуле для концентрации цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$  не определяется автоматически по интенсивности флуоресценции клетки в присутствии 2 мМ  $\text{MnCl}_2$ , как это указано в автореферате, а пересчитывается с учетом измерившихся сигналов. Впрочем, это принципиально не меняет соотношение  $\text{Ca}^{2+}$  сигналов, представленных на Рис.4Б.
2. Регуляция ионного транспорта преимущественно осуществляется клетками через изменение вероятности открытого состояния и плотности каналов, в то время как проводимость канала – это достаточно инвариантная величина. Автором получен

