

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук, профессора кафедры общей физиологии ФГБОУ Санкт-Петербургский государственный университет, Кривого Игоря Ильича, на диссертационную работу Зайцевой Анастасии Константиновны «**Исследование потенциал-зависимых натриевых каналов при каналопатиях**», представленную к защите на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. – физиология человека и животных

Актуальность темы диссертации

Роль потенциал-зависимых натриевых каналов Nav1.5 в физиологии сердца заключается в обеспечении быстрого тока ионов натрия в кардиомиоциты в ходе фазы деполяризации потенциала действия. Нарушение функционирования этих каналов негативно отражается на проводимости, возбудимости и ряде других свойств кардиомиоцитов и всего сердца в целом, проявляясь, в частности, в сердечной аритмии. Натриевые каналопатии – обширная гетерогенная группа заболеваний, которые характеризуются нарушением работы натриевых каналов. Число наследственных мутаций при сердечных аритмиях, приводящих к нарушениям функционирования потенциал-зависимых натриевых каналов Nav1.5, неуклонно растёт и уже превышает две тысячи вариантов. Один из механизмов натриевой каналопатии, в частности, обусловлен нарушением экспрессии гена, кодирующего порообразующую альфа-субъединицу натриевого канала Nav1.5.

Очевидно, что исследование роли натриевых ионных каналов в физиологии и патологии сердца имеет особое значение для диагностики сердечных аритмий и разработки, в перспективе, новых методов профилактики, коррекции и терапии. Однако, несмотря на интенсивные исследования молекулярных механизмов развития натриевых каналопатий, многие вопросы в этой области остаются не решенными. Для проверки предложенной гипотезы о молекулярно-клеточных и структурных механизмах дисфункции натриевых каналов в работе А.К. Зайцевой использованы самые современные методы молекулярной биологии, электрофизиологии и структурной биологии. Таким образом, диссертационная работа А.К. Зайцевой во всех отношениях является актуальной и весьма перспективной для решения ряда важных физиологических и практических вопросов.

Структура и общая характеристика диссертации

Диссертация написана хорошим литературным языком и оформлена по традиционной схеме: состоит из введения, обзора литературы, методической главы, результатов, обсуждения и выводов. Диссертация изложена на 180 страницах, содержит 32 рисунка и 7 таблиц. Список литературы содержит 292 источника.

Во «Введении» изложена суть проблемы, обоснованы актуальность, цель и задачи исследования, сформулированы положения, выносимые на защиту. Данная часть диссертации четко соотносится с выводами, сделанными в конце работы на основании анализа полученных результатов.

Глава «Обзор литературы» представляет собой детальный анализ современных представлений по рассматриваемой проблеме, суммирует результаты предыдущих работ и обосновывает проведение собственных исследований. В целом, обзор литературы свидетельствует о хорошем знании автором современного состояния в данной области и является солидным теоретическим фундаментом, используемым в дальнейшем для описания и обсуждения результатов. Эта часть работы позволила автору не только охарактеризовать всю проблему в целом, но и логически обосновать цель и задачи исследования.

В главе «Материалы и методы» весьма квалифицированно и достаточно подробно описаны используемые подходы молекулярной биологии, электрофизиологии и молекулярного моделирования, а также способы статистической обработки. Исследование проведено на модели гетерологической системы экспрессии клеточной линии HEK293T, которая является одним из основных инструментов исследования функциональных характеристик натриевых токов методом локальной фиксации потенциала. Адекватность методических приемов не вызывает сомнений.

Глава «Результаты» представляет собой значительную часть диссертационной работы. Результаты исследования подробно описаны и проанализированы, изложены четко и хорошо структурированы, что не только позволяет оценить большой объем проделанной работы, но и характеризует высокую квалификацию автора. К сильным сторонам диссертации, прежде всего, относится интеграция методов экспериментальной физиологии и теоретической биологии, что важно при комплексном исследовании механизмов развития наследственных аритмий. Полученные данные вносят существенный вклад в понимание функциональной значимости внеклеточных линкеров в функционировании канала Nav1.5 в норме и патологии. Полученные результаты о переквалификации вариантов неизвестной клинической значимости в потенциально-повреждающие варианты могут найти применение в клинической практике.

В разделе «Обсуждение» автор критически сопоставляет полученные результаты с данными литературы, аргументировано доказывает правомерность выбранного подхода к решению поставленной задачи и сделанных заключений.

«Выводы» сформулированы четко, логически вытекают из результатов и полностью соответствуют поставленным задачам и положениям, вынесенным на защиту, и отражают ключевые результаты, полученные в диссертации.

Достоверность результатов

Большой объем проведенной экспериментальной работы позволил автору в должной степени обосновать все научные положения, выносимые на защиту. Материалы диссертации широко представлены на отечественных и международных конференциях, основные научные результаты диссертации опубликованы в рейтинговых рецензируемых научных изданиях (8 статей в журналах, индексируемых в международных базах данных Web of Science или Scopus). Доминирующий личный вклад автора в диссертационную работу не вызывает никаких сомнений.

Соответствие содержания диссертации указанной специальности

Представленная диссертация полностью соответствует специальности 1.5.5. – физиология человека и животных.

Соответствие содержания автореферата содержанию диссертации

Автореферат полностью отражает структуру и содержание диссертации.

Новизна научных положений и выводов, сформулированных в диссертации

В работе получены новые данные об электрофизиологических эффектах болезнетворных мутаций гена *SCN5A*. Предложены структурно-молекулярные механизмы развития аритмии при дисфункции канала Nav1.5. С помощью биоинформатики проанализирован ряд вариантов неизвестной клинической значимости и предсказана их патогенность. Комплексное исследование, выполненное А.К. Зайцевой, позволило установить, что мутации Y739D и A1294G в натриевом канале миокарда Nav1.5 приводят к уменьшению его активности, что может лежать в основе развития наследственной патологии сердца. Было показано, что физиологические свойства исследованных мутантных каналов Nav1.5 зависят от ряда конкретных междоменных и межсегментных контактов. Кроме того, автор продемонстрировал, что дисфункция ряда мутантных каналов сердца Nav1.5 может быть предсказана путём анализа специфических межсегментных контактов в его трёхмерной структуре.

Практическая ценность результатов; возможность использования в лекционных курсах, методических пособиях

Результаты диссертации имеют значение для понимания роли потенциал-зависимых натриевых каналов в физиологии сердца и механизмах развития наследственных аритмий. Автором функционально охарактеризовано влияние на натриевый ток двух ранее неизвестных вариантов гена *SCN5A*, обнаруженных у пациентов центра имени Алмазова. Впервые показано зависящее от состояния канала взаимодействие между глутаматом E1295 в потенциал-чувствительном домене и аргинином R1739 в поровом домене, которое может

играть важную роль в передаче сигнала в процессах медленной и быстрой инактивации. Предложено структурное обоснование потенциально-повреждающего эффекта для списка вариантов неизвестной клинической значимости из базы данных ClinVar. Такая реклассификация вариантов может найти применение в клинической практике для улучшения диагностики и оценки риска развития аритмических нарушений у пациентов-носителей мутаций в гене натриевого канала сердца. В целом, полученные результаты важны для правильной постановки диагноза, оценки риска и подбора адекватной терапии для пациентов с наследственными аритмиями. Результаты работы можно рекомендовать для ознакомления студентам биологических и медицинских факультетов.

Замечания

Диссертация написана хорошим научным языком и не вызывает замечаний по форме, способу изложения или содержанию, способных повлиять на высокую оценку работы. Однако, в ходе ознакомления с текстом диссертации возник ряд вопросов и замечаний, требующих уточнений.

1. Для описания мембранной топологии канала Nav1.5 в тексте диссертации используется термин «повторы», хотя в литературе, как правило, используется термин «домены». Чем обусловлена такая замена?
2. На стр. 135 написано: «По-видимому, эти мутации искажают структуру селективного фильтра и увеличивают фракцию медленно инактивированных каналов». Правильнее сказать, что мутации облегчают переход в состояние медленной инактивации, либо же стабилизируют состояние медленной инактивации.
3. Почему по тексту работы в случае одних мутаций используется термин «промежуточная инактивация», а в случае других «медленная инактивация»?
4. В названии таблицы 6 на стр. 99 логичнее использовать термин «мутация», а не «генетический вариант».
5. На стр. 83 написано: «Этот вариант не зарегистрирован в базе данных gnomAD, ClinVar или любых других базах данных»: желательно добавить дату на какой момент о варианте не было сообщений в базах данных.
6. Подпись к рисунку 20 на стр. 102: «Каналы A1294G демонстрируют замедленную кинетику восстановления после промежуточной инактивации». Предпочтительно использовать выражение «замедляют восстановление после инактивации».

Следует отметить, что заданные вопросы не являются принципиальными, не затрагивают сути работы и не снижают общего положительного впечатления о работе.

Заключение

В целом, диссертация Анастасии Константиновны Зайцевой «Исследование потенциал-зависимых натриевых каналов при каналопатиях», представленная на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. – физиология человека и животных, является законченной научно-исследовательской работой, выполненной на высоком методическом уровне. Полученные результаты отражены в выводах и полностью соответствуют поставленной цели и задачам исследования. Результаты, изложенные в диссертационной работе, имеют высокую научную и практическую значимость, и вносят весомый вклад в понимание роли ионных каналов в физиологии сердца и механизмах развития аритмий при натриевых каналопатиях.

Актуальность, новизна, практическая значимость, методический уровень и объём проведённых А.К. Зайцевой исследований полностью соответствуют критериям «Положения о порядке присуждения учёных степеней» от 24.09.2013 №842, пп. 9-14 (в редакции Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. №335), а её автор Анастасия Константиновна Зайцева заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. – физиология человека и животных.

Официальный оппонент:

Профессор кафедры общей физиологии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»,
доктор биологических наук

Кривой Игорь Ильич

ЛИННУЮ ПОДПИСЬ
Кривого И. И.
ЗАВЕРЯЮ

Заместитель начальника
Управления кадров СПбГУ
Н. К. Корельская

17.09.24.

Адрес: 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9 Литер А,
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»,
Биологический факультет, кафедра общей физиологии
e-mail: i.krivoy@spbu.ru
тел.: +7 921 3802953

