



ФГБНУ НЦН

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ

## «НАУЧНЫЙ ЦЕНТР НЕВРОЛОГИИ»

Волоколамское шоссе, д. 80, Москва, 125367, тел.: (495) 374-77-76, факс: (495) 490-22-10  
Электронная почта: center@neurology.ru, интернет-сайт: <http://www.neurology.ru>  
ОКПО 01897653, ОГРН 1027739766812, ИНН/КПП 7733012151/773301001

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФГБНУ «Научный центр неврологии»  
академик РАН, доктор медицинских наук, профессор,

М.А. Пирадов

19 сентября 2024 г.



### ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической ценности диссертации Зайцевой Анастасии

Константиновны

«Исследование потенциал-зависимых натриевых каналов при  
каналопатиях»,

представленной к защите в диссертационный совет 24.1.137.01 при  
Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте  
физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук на соискание  
ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. –

**Физиология человека и животных**

**Актуальность темы выполненной работы и её связь с  
соответствующими отраслями науки**

Ионные каналы играют важнейшую роль в нормальной физиологии сердца. Они регулируют изменения мембранного потенциала кардиомиоцитов в ходе потенциала действия, что определяет их электрическую активность и способность к сокращению. Каналопатии – это

гетерогенная группа заболеваний, связанных с нарушениями функционирования разных типов ионных каналов. Наследственные аритмии могут быть вызваны мутациями гена *SCN5A*, кодирующего потенциал-зависимый натриевый канал сердца  $Na_v1.5$ . Эти мутации могут приводить к множественным изменением функциональных свойств  $Na_v1.5$ . Синдром удлиненного интервала QT связан с гиперфункцией  $Na_v1.5$  (gain-of-function), в то время как синдром Бругада, прогрессирующее нарушение проводимости сердца, и другие заболевания связаны с дисфункцией натриевых каналов (loss-of-function). Изменение активности  $Na_v1.5$  оказывает влияние на работу кардиомиоцитов, что отражается на проводимости, возбудимости и других характеристиках миокарда. Таким образом, исследование активности натриевых каналов в норме и при каналопатиях имеет большое значение как для понимания роли натриевых каналов в физиологии сердца, так и для улучшения диагностики наследственных аритмий и разработки новых методов лечения сердечных заболеваний. В течение последних десятилетий было функционально охарактеризовано всего 10% известных вариантов гена *SCN5A*, идентифицированных у пациентов с наследственными аритмиями. Большинство известных мутаций является вариантами неизвестной клинической значимости. Таким образом, для этих мутаций отсутствуют рекомендации по терапии и возможности хирургического вмешательства. Важно отметить, что наличие у пациента с синдромом Бругада доказанной патогенной мутации *SCN5A* является основанием для установки кардиовертер дефибриллятора. На сегодняшний день для большинства мутаций не был предложен структурно-молекулярный механизм развития аритмии. В связи с этим диссертационная работа Зайцевой А.К., направленная на исследование механизмов развития натриевых каналопатий и поиск путей интеграции данных функциональных и теоретических исследований для предсказания патогенности вариантов неизвестной клинической значимости, актуальна и представляет большой научный интерес.

Настоящая научная работа выполнена в рамках научно-исследовательских программ лаборатории биофизики синаптических процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук и Института молекулярной биологии и генетики федерального государственного бюджетного учреждения Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова Министерства здравоохранения России, где традиционно проводятся функциональные исследования активности различных ионных каналов и их вклада в развитие наследственных заболеваний человека.

### **Научная новизна исследования и полученных результатов**

В работе рассмотрены функциональные механизмы развития аритмогенных синдромов, ассоциированных с мутациями в гене *SCN5A*, кодирующем потенциал-зависимый натриевый канал сердца Nav1.5, - Y<sup>739</sup>D и A<sup>129</sup>4G, и предложена структурно-молекулярная интерпретация наблюдаемых изменений функциональной активности Nav1.5. Впервые было показано взаимодействие между заместителями E1295 в потенциал-чувствительном домене и R1739 в поровом домене, а также определена роль этого взаимодействия в дисфункции мутантного канала у A1294G. Автором описан путь передачи сигнала между различными доменами канала Nav1.5, который может участвовать в регуляции его инактивации. Предложены структурные обоснования для понимания патогенности генетических вариантов, описанных как варианты неизвестной клинической важности в базе данных ClinVar.

### **Обоснованность основных научных положений и выводов, сформулированных в диссертации**

При выполнении диссертационного исследования для изучения роли потенциал-зависимых натриевых каналов в развитии каналопатий на примере мутаций в гене *SCN5A*, обнаруженных у пациентов с наследственными аритмиями, автором были использованы современные методы электрофизиологии, молекулярной и клеточной биологии и молекулярного моделирования. Применённые методы исследования, объём полученных экспериментальных данных, их статистическая обработка и высокий уровень анализа позволяют считать результаты диссертационной работы достоверными, а выводы и положения, выносимые на защиту, обоснованными.

Автором использовано большое число современных литературных источников, на основании которых проведено углублённое изучение избранной научной проблемы.

### **Теоретическая и практическая значимость полученных результатов**

Ценность диссертационного исследования А. К. Зайцевой заключается в комплексном анализе роли внеклеточных линкеров IIS1-S2 и IIS3-S4 в гейтинге канала  $Na_v1.5$  и динамике межсегментных контактов в структуре  $Na_v1.5$ . Полученные автором данные позволили сформулировать гипотезу о взаимодействии между аминокислотами в различных участках  $Na_v1.5$  и объяснить роль этого взаимодействия в регуляции инактивации. В ходе дальнейшей теоретической работы были проанализированы варианты неизвестной клинической значимости и межсегментные контакты соответствующих аминокислот. На основании структурных данных предложен список потенциально повреждающих вариантов. Таким образом, полученные данные имеют как теоретическую значимость для развития представлений о структурной организации и функционировании канала  $Na_v1.5$ , так и практическое значение для диагностики наследственных патологий сердца.

## Характеристика диссертационной работы

Текст диссертации построен по традиционному плану, состоит из «Введения», глав «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение», выводов и списка литературы, содержащего 292 источника. Диссертация изложена на 180 страницах, содержит 32 рисунка и 7 таблиц.

Обзор литературы написан хорошим литературным языком, в нём отражены все необходимые для понимания результатов диссертационного исследования данные: подробно описаны современные представления о потенциал-зависимых натриевых каналах сердца  $Na_v1.5$ , подробно описана роль этих каналов в физиологии и патологии сердца, представлены данные функциональных исследований вариантов гена *SCN5A*, ассоциированных с развитием наследственных аритмий. Автор уделяет особое внимание систематизации имеющихся экспериментальных данных о роли  $Na_v1.5$  в возникновении аритмогенных синдромов. В отдельном разделе автор описывает имеющиеся данные о структурной организации  $Na_v1.5$  и роли различных участков канала в гейтинге.

В главе «Материалы и методы» подробно изложены все использованные методики, приведено описание использованных молекулярно-биологических подходов, электрофизиологических протоколов и анализа полученных данных, молекулярного моделирования, методов математической статистики. Используемые автором методы адекватны поставленным задачам.

В главе «Результаты» подробно описаны результаты экспериментов по функциональной характеристике мутантных каналов  $Y^{739}D$  и  $A1^{294}G$  в клетках линии НЕК-293Т. На основе анализа структуры  $Na_v1.5$  сформулирована гипотеза о существовании междоменного взаимодействия между заместителями E1295 и R1739 и приведены экспериментальные данные, подтверждающие это предположение. Описаны результаты

теоретического анализа структуры Nav1.5, на основании которого среди вариантов неизвестной клинической значимости был выбран список потенциально повреждающих мутаций. Все результаты изложены логично и снабжены иллюстрациями надлежащего качества.

Обсуждение полученных данных и анализ итогов работы выполнены на высоком уровне. Автор уделяет особое внимание ограничениям используемых в исследовании подходов. В конце раздела присутствует обобщающее описание всех полученных результатов с обсуждением перспективы дальнейшей разработки темы исследования.

Выводы и положения, выносимые на защиту, следуют из результатов проведённых экспериментов и полностью соответствуют поставленным задачам.

Содержание автореферата соответствует основным разделам диссертации, позволяет получить полное представление об объёме выполненных работ, дизайне исследования, его актуальности и научной новизне, степени достоверности полученных результатов, теоретическом и практическом значении выполненного исследования.

#### **Подтверждение опубликования результатов диссертации в научных изданиях**

Научные положения диссертационной работы А. К. Зайцевой полностью отражены в 8 статьях в журналах из перечня ВАК и международных баз данных Scopus и Web of Science и в 5 тезисах конференций.

#### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы**

Результаты диссертационного исследования Зайцевой А. К. могут быть использованы при преподавании курсов лекций по физиологии человека в учреждениях Министерства Науки и Высшего образования Российской

Федерации, Министерства Здравоохранения Российской Федерации, а также могут быть применены в медицинской практике: предложен список мутаций в гене *SCN5A* ранее описанных как варианты неизвестной клинической значимости, и приведены обоснования того, что эти мутации следует рассматривать как потенциально патогенные. Патогенность мутации является основой постановки диагноза и определения необходимости кардиохирургического вмешательства.

### **Замечания по диссертационной работе**

1. Название диссертационной работы представляется слишком широким и не вполне отражает суть проведенного исследования.
2. В предложении на стр.32 «Эти движения приводят к переходу канала в состояние быстрой инактивации, в котором ключевую роль играет инактивирующая частица (или мотив IFM),» не дана расшифровка мотива IFM.
3. Почему в качестве модельной мутации для исследования взаимодействия между E1295 и R1739 была выбрана замена E1295R? Мутация E1295K аннотирована в базе данных ClinVar в связи с аритмиями и выглядит более логичным выбором для изучения.
4. В разделе "Методика" очень скупо представлен раздел, посвященный электрофизиологическим исследованиям. Не указано, на каких клетках и через какое время после трансфекции проводилась регистрация, осуществлялась ли перфузия клеточных культур при регистрации.
5. Термин "набор w54" вводит читателя в некоторое замешательство. Корректнее использовать выражение "список".
6. Зачем понадобилось вводить термин "потенциально-повреждающие варианты"?
7. В результатах диссертационной работы автора было продемонстрировано комплексное изменение биофизических

характеристик натриевого тока для мутаций, обнаруженных у пациентов. Насколько обнаруженные изменения коррелируют с клинической картиной, наблюдаемой у пациента?

8. На стр. 83 используется термин «синкопический анамнез», в не медицинской литературе желательно добавить пояснение, либо использовать более понятные широкой аудитории синонимы.
9. На стр. 97 «ускорение быстрой инактивации может вносить вклад в развитие клинических проявлений у пациента» корректнее говорить о вкладе ускорения быстрой инактивации в развитие фенотипа снижения активности канала, а не клинической картины пациента.
10. На стр. 79 использован английский вариант термина «P-loop канал» вместо принятого в русскоязычной литературе «P-петлевые каналы».

Все приведённые вопросы не затрагивают сути работы и сформулированы в плане дискуссии.

### **Заключение**

Диссертация Анастасии Константиновны Зайцевой на тему: «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 самостоятельно выполненной научно-квалификационной работой, содержащей решение задачи по изучению структурно-молекулярных механизмов развития натриевых каналопатий миокарда, ассоциированных с генетическими вариантами, идентифицированными у пациентов с аритмогенными синдромами, что имеет большое значение для физиологии и медицины.

По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов диссертационная работа Зайцевой Анастасии Константиновны полностью соответствует требованиям п.9 Положения о порядке



присуждения учёных степеней, утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а автор диссертационного исследования Зайцева Анастасия Константиновна заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. – Физиология человека и животных.


Отзыв обсужден и принят на заседании научной конференции сотрудников лабораторий функциональной синаптологии Института мозга Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр неврологии», протокол №4 от «27» мая 2024 года.


Ведущий научный сотрудник лаборатории  
функциональной синаптологии Института мозга  
ФГБНУ «Научный центр неврологии»  
д.б.н. (специальность 03.03.06 - Нейробиология)

 И.Н. Шаронова

Ведущий научный сотрудник лаборатории  
функциональной синаптологии Института мозга  
ФГБНУ «Научный центр неврологии»  
к.ф.-м.н. (специальность 03.01.02 - Биофизика)

 А.В. Россохин

Даю согласие на сбор и обработку личных данных  И.Н. Шаронова

Даю согласие на сбор и обработку личных данных  А.В. Россохин

Подписи д.б.н. Шароновой И.Н. и к.ф.-м.н. Россохина А.В. ЗАВЕРЯЮ:

Ученый секретарь ФГБНУ НЦН,  
кандидат медицинских наук



Д.В. Сергеев