

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

по диссертации младшего научного сотрудника научно-исследовательской лаборатории молекулярного и клеточного моделирования и генной терапии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Зайцевой Анастасии Константиновны «Исследование потенциал-зависимых натриевых каналов при каналопатиях» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 – физиология человека и животных

Для рассмотрения диссертационной работы Зайцевой А.К. была создана комиссия из членов Диссертационного совета 24.1.137.01 в составе: д.б.н. Крылова Б.В., д.б.н. Кравцовой В. В., д.б.н. Лопатиной Е.В.

Комиссия ознакомилась с диссертацией, авторефератом и представленными документами. Диссертация Зайцевой А.К. выполнена на базе ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН». Научный руководитель – Жоров Борис Соломонович, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник междисциплинарной лаборатории нейробиологии ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН».

Диссертация была апробирована 4 апреля 2024 г. на межлабораторном заседании ИЭФБ ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН» и была рекомендована к защите на Диссертационном совете по защите докторских и кандидатских диссертаций по специальности 1.5.5 – Физиология человека и животных.

Диссертационная работа Зайцевой А.К. направлена на подробный анализ структурно-функциональных механизмов развития наследственных натриевых каналопатий.

Автором исследования впервые установлено, что мутации $Y^{739}D$ и $A^{1294}G$ в натриевом канале миокарда $Na_v1.5$, играющем ключевую роль в нормальном функционировании кардиомиоцитов, приводят к дисфункции $Na_v1.5$. Предложено структурное обоснование электрофизиологического эффекта данных мутаций. Предложена структурная гипотеза о существовании межсегментного контакта $E^{1295}:R^{1739}$, изменение свойств которого рассматривается в качестве структурной основы наблюдаемых функциональных изменений у $Na_v1.5-A^{1294}G$. Получено экспериментальное подтверждение существования взаимодействия между заместителями E^{1295} и R^{1739} .

В ходе дальнейшей теоретической работы были проанализированы варианты гена *SCN5A* неизвестной клинической значимости. На основании структурных данных был предложен список потенциально-повреждающих вариантов.

Сайт-специфический мутагенез методом ПЦР-амплификации использовался для создания мутантов Nav1.5, которые были впоследствии экспрессированы в клеточной линии HEK293-T. Полученная модель гетерологической системы экспрессии позволила провести функциональные исследования влияния мутаций на электрофизиологические свойства канала Nav1.5 с помощью метода локальной фиксации потенциала (patch-clamp). Было показано, что мутанты Y⁷³⁹D и A¹²⁹⁴G влияют на активацию и инактивацию Nav1.5 и приводят к фенотипу уменьшения активности, который, как предполагает автор, может лежать в основе развития аритмии у пациентов. Использование подходов молекулярного моделирования позволило дать структурную интерпретацию полученных электрофизиологических данных, установить какие межсегментные каналы в структуре Nav1.5 изменяются в случае мутаций у пациентов и предсказать ранее неизвестное взаимодействие между аминокислотами E¹²⁹⁵ и R¹⁷³⁹. Эта структурная гипотеза была далее проверена с помощью функциональных исследований. Таким образом, было получено экспериментальное подтверждение взаимодействия E¹²⁹⁵ и R¹⁷³⁹.

На основе анализа структуры Nav1.5 и матричного представления контактных вариантов предложен список потенциально повреждающих вариантов гена *SCN5A* для последующих экспериментальных исследований.

Результаты исследования демонстрируют преимущества комбинированного подхода, использующего методы электрофизиологии и молекулярного моделирования и возможность его последующего применения в клинической практике для диагностики и стратификации риска у пациентов с наследственными аритмиями.

Комиссия подтверждает, что экспериментальные данные, которые легли в основу предлагаемой диссертации, получены и обработаны лично автором. Несомненны достоверность полученных результатов, их актуальность и новизна. Выводы, сделанные автором, основаны на анализе значительного фактического материала и полностью соответствуют полученным экспериментальным данным.

В результате анализа содержания диссертации и автореферата члены комиссии пришли к выводу, что работа полностью удовлетворяет требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, и рекомендуют ее для принятия к защите. Представленная работа соответствует паспорту специальности 1.5.5 – физиология человека и животных. Цель проведенного исследования достигнута, задачи решены в полном объеме. Выводы соответствуют задачам исследования. В результате ознакомления с диссертацией и авторефератом члены комиссии пришли к заключению, что текст диссертации, размещенный на сайте ФГБУН «Институт физиологии им И.П. Павлова РАН» и бумажный вариант диссертации, представленный в диссертационный совет, идентичны, а диссертационная работа соответствует профилю Диссертационного совета 24.1.137.01.

Материалы работы опубликованы в печати: по теме диссертации опубликованы 8 статей в рецензируемых журналах из перечня ВАК и приравненных к ним и 5 тезисов докладов. Автореферат отражает содержание работы и может быть опубликован.

В качестве официальных оппонентов предлагаются:

Кривой Игорь Ильич, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры Общей физиологии Биологического факультета ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет». 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9.

Чубинский-Надеждин Владислав Игоревич, кандидат биологических наук, руководитель группы ионных механизмов клеточной сигнализации, ФГБУН «Институт Цитологии Российской Академии Наук». 194064, Санкт-Петербург, Тихорецкий пр., 4. Предварительное согласие оппонентов получено.

Предлагается направить работу Зайцевой А.К. «Исследование потенциал-зависимых натриевых каналов при каналопатиях» на отзыв ведущего учреждения в Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр неврологии», 125367, Москва, Волоколамское шоссе, д. 80.

Предлагается список специалистов, которым необходимо направить автореферат в дополнение к основному списку рассылки:

1	Колесников Станислав Сергеевич, член-корреспондент РАН, д.б.н., профессор, руководитель лаборатории молекулярной физиологии клетки	ФГБУН «Институт биофизики клетки Российской академии наук» 142290, Пущино, Институтская ул., 3.
2	Крутецкая Зоя Иринарховна, д.б.н., профессор с возложением обязанностей заведующего кафедрой биофизики биологического факультета	ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет». 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9.
3	Василевский Александр Александрович, к.х.н., главный научный сотрудник лаборатории молекулярных инструментов для нейробиологии	ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук». 117997, Российская Федерация, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10
4	Шарков Артём Алексеевич, научный сотрудник Научно-исследовательского	ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова»

	клинического института педиатрии и детской хирургии им. ак. Ю.Е. Вельтищева	Министерства здравоохранения РФ. 117513, Российская Федерация, Москва, ул. Островитянова, 1
5	Абрамочкин Денис Валерьевич, д.б.н., профессор, заведующий кафедрой физиологии человека и животных, Биологический факультет	ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова». 119234, Российская Федерация, Москва, Ленинские горы, 1/12
6	Поройков Владимир Васильевич, д.б.н., профессор, член-корреспондент РАН, руководитель отдела биоинформатики.	ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича». 119121, Российская Федерация, Москва, ул. Погодинская, 10.
7	Безprozванный Илья Борисович, д.б.н., профессор, заведующий лабораторией молекулярной нейродегенерации	ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого». 195251, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, 29/Б.

Предполагаемый срок защиты: октябрь 2024 года.

Д.б.н. Крылов Б.В.

Д.б.н. Кравцова В.В.

Д.б.н. Лопатина Е.В.