

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Виолетты Васильевны Кравцовой «Функциональная гетерогенность Na,K-АТФазы в скелетной мышце», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология

Диссертационная работа В.В. Кравцовой посвящена исследованию функционального разнообразия Na,K-АТФазы в скелетной мышце. Na,K-АТФаза является важнейшим компонентом сложной системы, обеспечивающей поддержание нормальной двигательной активности скелетной мускулатуры. Эта ферментная система давно и активно исследуется, однако нерешенных вопросов остается очень много, поэтому работа В.В. Кравцовой, безусловно, актуальна. На первый взгляд название работы слишком общее, однако, оно отражает широту и глубину охвата проблемы.

С использованием многообразных методических подходов (регистрация электрической активности и механограммы, конфокальная микроскопия, ПЦР в реальном времени, вестерн-блот анализ) в условиях покоя, при воздействии фармакологических агентов, а также при моделировании двигательной разгрузки и сократительной активности, автором установлено, что $\alpha 1$ и $\alpha 2$ изоформы Na,K-АТФазы в скелетной мышце существенно различаются по своей локализации, функциональному взаимодействию с молекулярным окружением и регуляции.

Глубокое погружение в проблему, прочный экспериментальный задел, хорошо задуманные изящные эксперименты позволили автору сформулировать убедительную гипотезу о существовании функционального молекулярного комплекса десенситизированного (конформационно измененного) никотинового холинорецептора (нХР) и $\alpha 2$ изоформы Na,K-АТФазы в скелетной мышце. Показано, что образование данного комплекса приводит к локальной гиперполяризации мембраны концевой пластинки при воздействии на нее наномолярных концентраций ацетилхолина, что определяет поддержание потенциала покоя постсинаптической мембраны.

В работе убедительно показано, что в организации комплекса нХР/ $\alpha 2$ Na,K-АТФаза существенная роль принадлежит холестерину. В частности, при частичном удалении мембранного холестерина специфически снижается электрогенная активность $\alpha 2$ Na,K-АТФазы в постсинаптической области. Автор полагает, что взаимодействие между $\alpha 2$ Na,K-АТФазой и холестерином участвует в поддержании мышечного электрогенеза в концевой пластинке.

Очень интересной представляется часть работы, посвященная двигательной разгрузке. Прежде всего, грамотно выбрана организация эксперимента с вывешиванием крыс. Исследована динамика ранних изменений на начальных этапах функциональной разгрузки, поскольку они могут быть связаны с запуском атрофической программы. Обнаружено, что уже через 6 час разгрузки происходит деполяризация постсинаптической и внесинаптической сарколеммы и исчезновение локальной гиперполяризации мембраны концевой пластинки. Еще через несколько часов мембранный потенциал покоя в районе постсинаптической мембраны восстанавливался, а внесинаптическая мембрана оставалась деполяризованной в течение всего трехдневного периода наблюдения. Удалось показать, что наблюдаемые изменения потенциала покоя в обоих исследованных районах шли параллельно с изменениями активности $\alpha 2$ Na,K-АТФазы при неизменной активности $\alpha 1$ Na,K-АТФазы. При сопоставлении изменений, полученных в камбаловидной (обездвиженной при вывешивании) и диафрагмальной (постоянно активной) мышцах крысы, доказано, что функционирование $\alpha 2$ Na,K-АТФазы во внесинаптическом районе сарколеммы напрямую зависит от двигательной активности.

Кроме того обнаружено, что снижение двигательной активности приводит к нарушениям структуры концевой пластинки (изменение площади и усиление фрагментации в распределении нХР). Механизмы структурно-функциональных нарушений при двигательной разгрузке на сегодняшний день неясны, однако автор связывает их со снижением уровня фосфорилирования АМФ-зависимой протеинкиназы.

В работе показано, что специфические ингибиторы Na,K-АТФазы убаин и маринобуфагенин в субнаномолярных концентрациях усиливают сокращения диафрагмальной

мышцы крысы, воздействуя на $\alpha 2$ Na,K-АТФазу. На этом основании делается вывод, что $\alpha 2$ изоформа Na,K-АТФазы может участвовать в регуляции сократительной активности эндогенными кардиотоническими стероидами.

Из, казалось бы, сугубо фундаментальной работы намечаются практические выходы. Так, например, данные о функциональной связи между nXP и $\alpha 2$ Na,K-АТФазой дают автору основания предполагать, что у курильщиков при хронически повышенной концентрации никотина переход части nXP в десенситизированное состояние может вызвать изменения экспрессии и активности Na,K-АТФазы.

Из простого перечисления полученных фактов видно, что выполнена хорошо задуманная, комплексная, очень сложная по исполнению работа. Данные статистически обработаны, изложены в строгой логической последовательности, очень квалифицированно обсуждены. Важно, что вырисовывается собственная концепция автора о функционировании и регуляции Na,K-АТФазы в скелетных мышцах, что совершенно необходимо для докторской диссертации. На мой взгляд, основные достижения работы – аргументированное положение о роли nXP как модулятора Na,K-АТФазы и выявление триггерных событий в функционировании $\alpha 2$ Na,K-АТФазы на ранних этапах двигательной депривации. По результатам опубликовано 25 статей в журналах из списка ВАК, 20 из которых входят в международные базы научного цитирования Web of Science и Scopus.

Таким образом, по методическому уровню, новизне и научно-практической значимости результатов исследования диссертационная работа В.В. Кравцовой соответствует критериям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор Кравцова Виолетта Васильевна заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

15.05.2018 г.



Ведущий научный сотрудник-
заведующая лабораторией физиологии мышечной деятельности
д.б.н., проф. Виноградова Ольга Леонидовна

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем Российской академии наук (ГНЦ РФ - ИМБП РАН), 123007, г. Москва, Хоросhevское шоссе, д.76А, тел. (499)195-01-28, e-mail: ovin@imbp.ru

Подпись О.Л. Виноградовой заверяю
Ученый секретарь ГНЦ РФ – ИМБП РАН
д.б.н. М.А. Левинских



