



УТВЕРЖДАЮ

Директор Государственного научного центра  
Российской Федерации Института медико-  
биологических проблем РАН

академик РАН  
«28» мая 2018 г.

Орлов Олег Игоревич

## ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертации

КРАВЦОВОЙ Виолетты Васильевны

«Функциональная гетерогенность Na,K-АТФазы в скелетной мышце»

представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук

по специальности 03.03.01 – физиология.

### **Актуальность темы выполненной работы и ее связь с соответствующими отраслями науки и практической деятельности**

Изучение функционального разнообразия Na,K-АТФазы в скелетной мышце, основанного на особенностях локализации, регуляции и функциональных взаимодействий с молекулярным окружением  $\alpha 1$ - и  $\alpha 2$ -изоформ ее  $\alpha$ -субъединицы представляет собой задачу большой теоретической и практической важности. Na,K-АТФаза является важнейший ферментом, который регулирует жизненно необходимые клеточные процессы. Активность Na,K-АТФазы играет важнейшую роль в поддержании мышечного электрогенеза и сократительной функции. Исследования последнего десятилетия демонстрируют сложные и изоформ-специфические реципрокные взаимодействия Na,K-АТФазы с соседними белками и липидами. Благодаря этому Na,K-АТФаза важна не только с точки зрения своей классической функции - поддержания ионного гомеостазиса, но и как сигнальная молекула в нейронах, эпителиальных, скелетных, сердечных и сосудистых клетках. Na,K-АТФаза формирует специализированные субклеточные мультимолекулярные микродомены, которые действуют как

рецепторы для циркулирующих эндогенных кардиотонических стероидов, запускающих разнообразные сигнальные каскады.

Актуальность исследования не вызывает сомнения и определяется важностью решаемых вопросов: особенность локализации, функционирования и регуляции  $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы в постсинаптической области мембраны; функциональные и межмолекулярные взаимодействия между Na,K-АТФазой и белками, включая взаимодействие с никотиновыми холинорецепторами и мембранным холестерином; хронические эффекты никотина; изоформ-специфичность влияния двигательной разгрузки в отношении Na,K-АТФазы; структурные нарушения концевой пластинки на ранних этапах двигательной разгрузки; регуляция сократительной функции скелетной мышцы кардиотоническими стероидами в концентрациях, соответствующих уровню их циркулирующих эндогенных аналогов.

### **Научная новизна исследования**

В диссертационной работе В.В. Кравцовой впервые применен комплексный подход в исследовании функционального разнообразия Na,K-АТФазы в скелетной мышце включающий исследование особенности локализации, регуляции, функциональных взаимодействий с молекулярным окружением изоформ  $\alpha$ -субъединицы Na,K-АТФазы.

Впервые выявлена особенность локализации  $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы в постсинаптической области мембраны и взаимодействие данной изоформы с никотиновыми холинорецепторами и мембранным холестерином. Получены доказательства реципрокного взаимодействия между  $\alpha 2$ -изоформой и холестерином липидных плотиков. При исследовании начального периода двигательной разгрузки скелетной мышцы впервые выявлен ряд структурно-функциональных перестроек. Выявлено, что данные изменения проявляются по-разному для постсинаптического и внесинаптического пулов  $\alpha 2$ -изоформы без нарушения её локализации в сарколемме. Установлено, что кратковременное снижение двигательной активности камбаловидной мышцы крысы сопровождается нарушением липидной структуры сарколеммы, а также

нарушениями распределения никотиновых холинорецепторов и структуры концевых пластинок. Впервые проведен комплексный анализ, свидетельствующий о функциональной пластичности  $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы по сравнению с функционально стабильной  $\alpha 1$ -изоформой.

Научная новизна представленной работы бесспорна и основана на ряде полученных автором оригинальных и важных в научном отношении данных.

### **Значимость для науки и практической деятельности полученных соискателем результатов**

Диссертационная работа В.В. Кравцовой связана с расширением современных представлений о функциональной специализации разных молекулярных форм одного и того же белка. Выявление молекулярного и функционального разнообразия Na,K-АТФазы, изучение регуляции ее активности имеет несомненную значимость для науки, поскольку этот белок играет жизненно важную роль. Полученные данные о взаимодействии  $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы с никотиновыми холинорецепторами и холестерином ценны для более глубокого понимания механизмов побочных эффектов применяемых в клинике антихолинэстеразных препаратов, при отравлении такими веществами, а также для изучения механизмов никотиновой зависимости и интоксикации. Предлагаемый принцип регуляции за счет функциональной связи никотинового холинорецептора с Na,K-АТФазой возможно действует и в ЦНС, где важнейшей функцией никотиновых холинорецепторов является модуляция эффективности синаптических связей.

Научно-практическая значимость этих задач не вызывает сомнений.

### **Структура и содержание работы**

Диссертация В.В. Кравцовой представляет собой завершенное самостоятельное научное исследование, решающее актуальную физиологическую проблему – изучение функционального разнообразия, регуляции и локализации альфа-субъединиц Na,K-АТФазы в скелетной мышце. Работа оформлена в соответствии с действующими правилами ВАК.

Диссертация изложена на 236 страницах и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, четырех глав собственных результатов и их обсуждения, общего заключения, выводов. Диссертация иллюстрирована 62 рисунками и 3 таблицами. Список цитируемой литературы включает 416 наименований (37 отечественных и 379 зарубежных источников).

Изложение собственных результатов структурировано и логически выстроено, хорошо иллюстрировано. Обоснованность разработанных автором научных положений, рекомендаций и выводов не вызывает сомнений и подтверждается в диссертации уникальностью экспериментального материала, полученного с использованием подходов и технологий последнего поколения, данными углублённого статистического анализа, а также согласованностью экспериментальных результатов автора с изученной литературой.

Автореферат отражает содержание и наиболее значимые результаты исследования.

Результаты исследований отражены в 57 научных публикациях. Среди которых 25 статей опубликовано в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, из них 20 входят в международные базы научного цитирования Web of Science Core Collection и Scopus; 5 статей в других изданиях; 27 публикаций в сборниках тезисов.

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

Полученные автором результаты исследования могут быть использованы в авиационной и космической медицине, при решении проблем связанных с адаптацией к гравитационной разгрузке, а также при разработке новых методов профилактики и коррекции двигательных расстройств при травмах и возрастных нарушениях. Полученные данные о влиянии сверхнизких концентраций кардиотонических стероидов на  $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы могут стать основой для разработки новых модуляторов мышечной и сердечной деятельности.

Полученные при проведении исследования данные могут быть включены в образовательные программы, использованы академическими и медицинскими учреждениями, а также университетами и научно-исследовательскими институтами.

### **Вопросы к работе**

При чтении диссертации возникает ряд дискуссионных вопросов, которые непосредственно вытекают из результатов исследований и их обсуждения.

1. В диссертации подробно описываются эффекты двигательной разгрузки в камбаловидной мышце крысы, которая действительно в наибольшей степени подвергается атрофическим изменениям в этих условиях. Однако диссертантом и другими авторами было показано, что устойчивая деполяризация при разгрузке наблюдается и в других мышцах, в частности, в мышцах с преобладанием «быстрых» волокон. Имеются ли изоформ-специфические особенности изменений электрогенной функции  $\text{Na}$ ,  $\text{K}$ -АТФазы в "быстрых" мышцах при разгрузке и каковы возможные механизмы таких изменений?

2. В диссертации описываются изменения мембранного потенциала покоя в условиях разгрузки в относительно гравитационно-независимой диафрагме крысы, что заставляет предположить существование системных гуморальных факторов, сопутствующих действию двигательной разгрузки. Такие факторы должны влиять на электрогенную функцию альфа-2-субъединицы. Какова может быть природа этих факторов (ростовые факторы, цитокины, гормоны)?

Дискуссионные вопросы только подчеркивают достоинства представленной работы и демонстрируют интерес, который она вызывает у специалиста.

### **Заключение**

Диссертация Кравцовой Виолетты Васильевны на тему «Функциональная гетерогенность  $\text{Na}$ ,  $\text{K}$ -АТФазы в скелетной мышце», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология, является самостоятельной законченной научно-квалифицированной работой, имеющей высокую научно-практическую ценность, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические

положения и практические рекомендации, совокупность которых можно квалифицировать как новое крупное достижение в решении научной проблемы. По своей актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований и практической значимости полученных результатов, представленная работа соответствует критериям п. 9 "Положения о порядке присуждения ученых степеней", утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 № 842 (редакция 21.04.2016 г. № 335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а её автор КРАВЦОВА Виолетта Васильевна заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Отзыв на диссертацию и автореферат обсужден и утвержден на заседании секции «Космическая физиология и биология» Ученого Совета ГНЦ РФ Института медико-биологических проблем РАН, протокол заседания № 3 от 21 мая 2018 г.

Д.м.н. по специальности 03.03.01., профессор, член-корреспондент РАН, Главный научный сотрудник отдела сенсомоторной физиологии и профилактики Федерального Государственного бюджетного учреждения науки Государственного научного центра Российской Федерации Института медико-биологических проблем Российской академии наук (ГНЦ РФ ИМБП РАН) 123007. г.Москва, Хорошевское ш. дом 76 А, телефон (рабочий) +7(499)195-23-75, E-mail [ikozlovs@mail.ru](mailto:ikozlovs@mail.ru)

Козловская Инеса Бенедиктовна

*И. Козловская*

«Подпись Козловской И.Б. заверяю»

Ученый секретарь ГНЦ РФ ИМБП РАН

Левинских М.А.

«25» мая 2018 года