

Отзыв официального оппонента

На диссертацию Шарло Кристины Андреевны на тему «NFATc1-зависимые механизмы стабилизации миозинового фенотипа постуральных мышц млекопитающих в условиях функциональной разгрузки», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.03.01 - физиология; 03.01.04 - биохимия.

Выполненная работа представляет собой интересное, актуальное и законченное в рамках поставленных задач научное исследование. Работа посвящена изучению механизмов регуляции экспрессии различных изоформ тяжёлых цепей миозина у крыс при функциональной разгрузке разной длительности, а также при опорной механической стимуляции.

Актуальность темы диссертации не вызывает сомнений: сдвиг миозинового фенотипа скелетной мускулатуры происходит в результате длительной функциональной разгрузки у космонавтов в условиях невесомости, а также у пациентов, находящихся на длительном постельном режиме, при инсультах и спинальных поражениях, при иммобилизации мышц в травматологии и может сопровождаться серьезными нарушениями метаболизма скелетной мускулатуры, ограничением ее функциональных возможностей и снижением эффективности программ реабилитации. Целостное представление о молекулярных механизмах, отвечающих за согласованную регуляцию экспрессии изоформ тяжелых цепей миозина в условиях функциональной разгрузки в настоящее время отсутствует и выявление механизмов, отвечающих за трансформацию и последующее восстановление скелетных волокон позволит задать направление для поиска мишеней для фармакологического воздействия с целью стабилизации миозинового фенотипа постуральных мышц при указанных выше патологиях/условиях.

Структура представленной диссертации соответствует традиционному принципу, текст диссертации изложен на 129 страницах, содержит 1 таблицу и 46 рисунков. Во введении в краткой форме обозначена актуальность исследования и обоснована необходимость решения ключевых вопросов в исследуемой области. Представленные задачи полностью соответствуют поставленной цели исследования. Краткое описание научной новизны, теоретической и практической значимости исследования в разделе «Введение» подчеркивает важность работы.

ИМБВ

Вход. в

08/1849 (1)

07.08.2020

Целью настоящего исследования было изучение NFAT-зависимых механизмов стабилизации «быстрого» миозинового фенотипа камбаловидной мышцы в условиях функциональной разгрузки. В своей работе Кристина Андреевна особое внимание уделила изучению механизмов регуляции траффика в мышечные ядра транскрипционного фактора NFATc1, играющего ключевую роль в регуляции транскрипции медленного миозина, а также исследованию молекулярных механизмов регуляции активности этого транскрипционного фактора.

В частности, для ответа на вопросы о том, какова динамика содержания NFAT в мышечных ядрах и как изменяется его транскрипционная активность при вывешивании и участвуют ли NO-зависимые механизмы в регуляции экспрессии медленной изоформы тяжелых цепей миозина при функциональной разгрузке в представленной работе была исследована экспрессия NFATc1 и MEF-2D в мышечных ядрах на разных сроках вывешивания, а также применяли донор оксида азота, ингибитор NO-синтазы и ингибиторы киназ GSK-3 и МАП-киназы p38 для выявления роли различных сигнальных каскадов в регуляции траффика NFATc1 в мышечные ядра и регуляции NFATc1-зависимой транскрипции. В работе рассмотрена роль протеинкиназ GSK3beta и МАП-киназы p38 как основных киназ, приводящих к экспорту NFATc1 из мышечных ядер на фоне моделируемой гравитационной разгрузки. С помощью ингибиторов данных киназ показана роль импорта NFAT из мышечных ядер в регуляции миозинового фенотипа волокон камбаловидной мышцы на фоне 3 и 7 суток моделируемой гравитационной разгрузки. В работе также изучено влияние опорной стимуляции на траффик NFATc1 и транскрипцию мРНК различных миозиновых изоформ и показана ключевая роль активности нейрональной NO-синтазы как в инактивации NFATc1 при моделируемой гравитационной разгрузке, так и в восстановлении активности NFATc1 при механической опорной стимуляции на фоне моделируемой гравитационной разгрузки.

Автором выполнен очень большой объем экспериментальных работ, использованные методы анализа соответствуют мировому уровню и адекватны поставленным задачам. Автореферат написан в стиле научной статьи и хорошо оформлен. Результаты описаны четко и подробно. Описания полученных результатов сопровождаются соответствующими диаграммами и таблицами, что способствует анализу и пониманию представленного материала. Выводы по диссертации сформулированы корректно и соответствуют поставленным задачам исследования.

Вопросы и замечания:

(1) В тексте, наряду с несущественными стилистическими ошибками и опечатками есть двусмысленность с аббревиатурами, введенными в разделе «Методы» для

обозначения групп животных в экспериментах, направленных на исследование роли NO и использованными далее в разделе «Результаты»: так на странице 41 (раздел 2.3) «животные, вывешенные в течение 7 суток с ежедневной внутривенной инъекцией L-аргинина и 50 мг/кг L-NAME», обозначены как группа «7HS+AN», а в разделе 3.2 мы находим такую группу животных в описании результатов, а на иллюстрациях и в легенде к ним видим подпись 7HS+N, которая нигде не расшифрована. При этом из контекста очевидно, что обозначение N введено для ингибитора NO-синтазы L-NAME, в связи с чем приходится догадываться по контексту, что на самом деле имеется в виду в каждом конкретном случае, вывешивание с ингибитором, но без L-аргинина, или опечатка в аббревиатуре, и это затрудняет восприятие материала; наконец, в разделе 4.2 (стр 95) мы видим, что группа 7HS+N обсуждается, как группа животных, в которой введение L-аргинина сопровождалось введением ингибитора NO-синтазы). Такая же проблема есть и в автореферате.

(2) Второй вопрос связан с замечанием (1): были ли выполнены в ходе исследования контрольные эксперименты с использованием ингибитора NO-синтазы L-NAME, для того чтобы убедиться в том, что ингибитор сам по себе не оказывает влияния на изучаемые показатели.

(3) В работе использован интересный метод определения содержания уровня оксида азота в миоплазме камбаловидных мышц. Метод, с точки зрения контроля качества выполнения важной группы экспериментов, является одним из ключевых в данном исследовании. Если методика не является оригинальной, хотелось бы в разделе «Методы» видеть ссылку на соответствующий литературный источник с подробным описанием методики.

(4) На страницах 56 и 91 автор говорит о наличии корреляции между динамикой экспрессии мРНК ТЦМ I и динамикой содержания NFATc1 в ядерной фракции. Был ли выполнен соответствующий корреляционный анализ?

(5) В разделе «Обсуждение результатов» мне не хватило обобщающего абзаца и/или схемы, где автор пояснил бы понятным широкому кругу читателей языком, почему важно стабилизировать миофиновый фенотип в условиях функциональной разгрузки, что принципиально нового для решения данной задачи было показано в представленной работе и какие Кристина Андреевна видит перспективы дальнейшего развития этого проекта.

Безусловно, высказанные замечания не носят принципиального характера и не оказывают влияния на качество выполненного исследования и не мешают благоприятному впечатлению от работы.

В целом представленная научно-квалификационная работа выполнена на современном научном уровне, содержит корректные результаты, соответствует пунктам 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013г. № 842, а автор диссертации, Шарло Кристина Андреевна, заслуживает присвоения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.03.01 – физиология, 03.01.04 - биохимия

Руководитель группы клеточной биологии,
института молекулярной биологии и генетики
к.б.н. (шифр специальности 03.03.01)


Дмитриева Рената Игоревна

Контактные данные:

197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д.2; ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова; Институт Молекулярной Биологии и Генетики

dmitrieva_ri@almazovcentre.ru

+7 (911) 783 0479

