

УТВЕРЖДАЮ:

Проректор по научной работе СПбГУ

С. В. Микушев



2019 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет» на диссертационную работу **Тыганова Сергея Александровича** «Реализация механического сигнала в системе регуляции синтеза белка в скелетной мышце млекопитающих на фоне гравитационной разгрузки», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология

Актуальность темы выполненной диссертационной работы

Хорошо известно, что двигательная активность скелетных мышц является необходимым фактором обеспечения полноценного функционирования всех систем организма. Различные формы снижения двигательной активности сопровождаются многочисленными нарушениями атрофического характера, включая уменьшение мышечной массы и сократительную дисфункцию. При гравитационной разгрузке этим изменениям наиболее подвержены постуральные мышцы. Молекулярные механизмы, лежащие в основе таких изменений в функционировании скелетной мышцы, во многом остаются неясными. Особый интерес представляет изучение начальных этапов двигательной дисфункции, которые могут играть роль триггеров в отношении последующих сигнальных событий, вызывающих атрофию. Несмотря на фундаментальную зависимость развития и поддержания мышечной массы от механических стимулов, конкретные механизмы, с помощью которых механическая нагрузка преобразуется в анаболический ответ (механотрансдукция) остаются неясными. В связи с этим, диссертационное исследование С.А. Тыганова, посвященное изучению этого вопроса в условиях моделируемой гравитационной разгрузки, безусловно, является весьма актуальным.

Научная новизна полученных результатов

Автором диссертационной работы впервые проанализирована динамика основных анаболических маркеров в постуральной мышце на ранних этапах моделируемой

гравитационной разгрузки. Так, на фоне повышенного фосфорилирования рибосомальной киназы p70S6K1, впервые обнаружено транзиторное снижение уровня фосфорилирования сигнальных ферментов 4E-BP1, GSK-3 β и p90RSK, что может быть одной из причин снижения эффективности трансляции в условиях разгрузки. Впервые показано снижение анаболического ответа постуральной мышцы на эксцентрическую нагрузку при гравитационной разгрузке разной длительности. На основе эксперимента с применением соли гадолиния (ингибитор стретч-чувствительных ионных каналов, SAC), впервые показана инактивация SAC-зависимой анаболической сигнализации в постуральной мышце в условиях разгрузки. Впервые показано влияние динамической опорной стимуляции стопы на анаболические сигнальные процессы внутри мышечного волокна на фоне разгрузки. Показано влияние опорной стимуляции на маркеры канонического сигнального пути IGF1/Akt/PKB/mTOR, а также изменения в фосфорилировании GSK-3 β и eEF2B. Впервые, в условиях разгрузки, показано частичное предотвращение механо-анаболической резистентности постуральной мышцы при использовании динамической стимуляции стопы.

Научно-практическая ценность полученных автором результатов

К приоритетным результатам диссертации следует отнести установленные автором сигнальные механизмы в системе синтеза белка, нарушение которых может быть одной из причин снижения эффективности трансляции в условиях гравитационной разгрузки. Важнейшими также являются результаты исследования клеточных механизмов, отвечающих за механотрансдукцию в скелетной мышце. Несомненным достижениям работы являются убедительные доказательства эффективности динамической опорной стимуляции стопы на фоне разгрузки, что позволяет поддерживать сигнальную систему на физиологически оптимальном уровне. Необходимо подчеркнуть, что значимость этой диссертации не ограничивается получением фундаментальных знаний о молекулярных перестройках в процессе адаптации постуральной мышцы к гравитационной разгрузке. Область применения полученных данных значительно шире, поскольку выявление молекулярных механизмов подобных функциональных нарушений открывает новые перспективы при поиске методов их коррекции и профилактики, проблем, исключительно востребованных не только в космической, но и в реабилитационной медицине.

Таким образом, новизна и научно-практическая ценность полученных автором экспериментальных данных не вызывают сомнений.

Степень обоснованности и достоверность научных положений, выводов и заключений

В работе применен ряд современных методов, таких как вестерн-блоттинг, электрофорез РНК в агарозном геле, анализ синтеза белка с помощью метода SUnSET. Автором разработана методика механической стимуляции опорных афферентов стопы крысы, а также методики работы с изолированной мышцей. Спектр методов, применяемых в работе, полностью адекватен поставленным задачам. Полученные в работе результаты, аккуратно документированы и проиллюстрированы.

Результаты диссертационного исследования С.А. Тыганова доложены на многочисленных съездах, симпозиумах и конференциях, в том числе международных. По теме диссертации опубликовано 6 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК.

Большой объем данных, их профессиональный анализ, использование корректных методов статистической обработки данных позволяет считать результаты диссертационной работы достоверными, а положения, выносимые на защиту, и выводы обоснованными.

Структура и объем диссертационной работы

Диссертационная работа построена по традиционному принципу, изложена на 130 страницах машинописного текста, содержит 38 рисунков, 8 таблиц. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания организации экспериментов и методов, результатов и их обсуждения, выводов и списка цитированной литературы, содержащей 265 источников.

Во «Введении» сделан краткий обзор проблемы, обоснованы цель и задачи работы, сформулированы положения, выносимые на защиту.

В главе «Обзор литературы» достаточно подробно показана общая характеристика, а также детали изучаемой проблемы. Дается информации о работе сигнальных путей, участвующих в передаче механического сигнала от механосенсоров скелетной мышцы. Проведен анализ степени изученности проблемы и выделены нерешенные вопросы. Обзор написан литературным языком, хорошо демонстрирует современное состояние исследований по изучаемой проблеме. Обзор литературы является хорошим теоретическим фундаментом, который автор использует при описании и обсуждении результатов. Эта глава свидетельствует о хорошем знании автором современного состояния исследований в этой области, что позволяет ему логически обосновать цели и задачи исследования.

Глава «Организация и методы исследований» дает подробное описание физиологических, биохимических и молекулярно-биологических методов, которые использованы автором для решения поставленных задач. Подробно описаны экспериментальные подходы к работе с животными, а также способы статистической обработки данных. Адекватность применяемых методов поставленным задачам не вызывает сомнений.

Главы «Результаты исследований» и «Обсуждение результатов» представляют собой значительную часть диссертационной работы. В главе «Обсуждение результатов» предпринимается успешная попытка интеграции полученных данных в существующие научные представления о механизмах развития мышечной атрофии при устранении опоры и использовании серии эксцентрических сокращений на изолированной мышце, а также при воздействии механической опорной стимуляции.

На основании полученных результатов сделано 5 выводов, которые логически вытекают из результатов и полностью соответствуют целям и задачам исследования.

Автореферат содержит описание основных наиболее значимых серий экспериментов и их обсуждение и полностью отражает основное содержание работы.

Рекомендации по использованию результатов и выводов данной работы

Полученные в работе результаты могут быть использованы при поиске фармакологических и иных подходов по предотвращению и коррекции атрофических состояний. Результаты могут быть использованы в научных учреждениях и коллективах, занимающихся изучением внутриклеточной механосигнализации в скелетной мышце, а также в учебном процессе при чтении курсов лекции по физиологии и биофизике.

Вопросы и замечания

Диссертационная работа написана хорошим научным языком и не вызывает значительных замечаний по форме, способу изложения или содержанию работы. Тем не менее, по итогам ознакомления с диссертацией, возникло несколько вопросов и замечаний:

Вопросы:

1. По методике: какова была длительность стимулирующих импульсов (что важно для оценки условий прямой стимуляции); не был ли задействован при стимуляции двигательный нерв и почему выбрана не характерная для камбаловидной мышцы частота стимуляции 50 имп/с?

2. В работе представлен противоположный ответ двух мишеней mTORC1 на высокоинтенсивные эксцентрические сокращения: активация рибосомальной киназы p70S6k и дезактивация 4E-связывающего белка. Чем можно это объяснить?
3. В эксперименте с использованием хлорида гадолиния была показана функциональная инактивация стретч-чувствительных каналов, проницаемых к различным ионам, которые предположительно влияют на анаболический сигналинг в постуральной мышце. С помощью какого механизма работа этих каналов может влиять на процессы синтеза белка в скелетной мышце?

Замечания:

По тексту встречаются немногочисленные опечатки. Встречается отсутствие знаков пунктуации. К замечаниям можно отнести малое количество русскоязычных литературных источников, а также цифровое цитирование в тексте, что создает некоторое неудобство при чтении диссертации.

Однако следует отметить, что указанные замечания не являются принципиальными и не снижают общего положительного впечатления о работе.

Заключение

Таким образом, диссертация Тыганова С.А. на тему «Реализация механического сигнала в системе регуляции синтеза белка в скелетной мышце млекопитающих на фоне гравитационной разгрузки», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченной, выполненной с использованием современных методов, научно-квалификационной работой, направленной на решение актуальной проблемы в области мышечной физиологии.

Диссертационная работа Тыганова С.А. по своей актуальности, научной новизне и практической значимости соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук (пункт №9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013г.), а ее автор Тыганов Сергей Александрович заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Отзыв составлен доктором биологических наук, профессором кафедры общей физиологии И.И. Кривым.

Отзыв заслушан и одобрен на заседании кафедры общей физиологии биологического факультета Санкт-Петербургского государственного университета (протокол № 5 от 23.05.2019 г.).

23 мая 2019 г.

Заведующий кафедрой
общей физиологии СПбГУ,
доктор биологических наук, профессор

А. Г. Марков

Профессор кафедры общей физиологии СПбГУ,
доктор биологических наук

И.И. Кривой

ЛИЧНУЮ ПОДПИСЬ

А. Г. Маркова
и *И. И. Кривого*

ЗАВЕРЯЮ

Заместитель начальника
Управления кадров СПбГУ



Н.К. Корельская

Почтовый адрес: 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9, Литер А,
Биологический факультет СПбГУ, кафедра общей физиологии
Телефон: (812) 328-95-89; E-mail: iikrivoi@gmail.com