

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д.002.005.01 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ КАЗАНСКОГО ИНСТИТУТА БИОХИМИИ И
БИОФИЗИКИ КАЗАНСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА РОССИЙСКОЙ
АКАДЕМИИ НАУК ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ
СТЕПЕНИ ДОКТОРА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 15 июня 2016 № 34

О присуждении Петрову Алексею Михайловичу, гражданство РФ,
ученой степени доктора биологических наук.

Диссертация «Роль холестерина в везикулярном цикле и процессах освобождения медиатора из двигательных нервных окончаний» по специальностям 03.01.02 – биофизика и 03.03.01 – физиология принята к защите 16.02.2016 г. (протокол № 26) диссертационным советом Д 002.005.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Казанского института биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, 420111, г. Казань, ул. Лобачевского д. 2/31 (приказ №105/нк от 11.04.2012 г.).

Соискатель Петров Алексей Михайлович, 1982 года рождения, в 2008 году защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук «Роль внутриклеточных сигнальных каскадов циклических нуклеотидов в кругообороте синаптических везикул двигательного нервного окончания лягушки», по специальности 03.03.01 - физиология в диссертационном совете Д 212.078.02 на базе Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Татарский государственный гуманитарно-педагогический университет». В настоящее время работает на кафедре нормальной физиологии Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения

Российской Федерации (КГМУ) в должности доцента. Диссертация выполнена на кафедре нормальной физиологии КГМУ.

Научный консультант – доктор медицинских наук, член-корреспондент Российской академии наук, профессор Зефилов Андрей Львович, заведующий кафедрой нормальной физиологии КГМУ.

Официальные оппоненты:

1. Магазаник Лев Гиршевич, РФ, доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник лаборатории биофизики синаптических процессов Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, г. Санкт-Петербург;

2. Шаронова Ирина Николаевна, РФ, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории функциональной синаптологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр неврологии», г. Москва;

3. Никитин Владимир Павлович, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории функциональной нейрхимии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина», г. Москва;

дали положительные отзывы на диссертационную работу Петрова А.М.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», г. Москва, в своем положительном заключении, подписанном зав. кафедрой физиологии человека и животных биологического факультета, д.б.н., проф. Каменским А.А. и проф., д.б.н. Балезиной О.П., указали, что актуальность темы диссертации и правильность анализа данных не вызывают сомнений, а все основные результаты отличает новизна и большое значение для биофизики и фундаментальной физиологии синаптических процессов. Отмечается, что результаты исследования позволяют по-новому представить влияние

холестерина на пресинаптический везикулярный цикл и процессы освобождения медиатора. В отзыве имеются вопросы, возникшие при анализе работы, при этом говорится, что они несколько не умаляют высокую оценку диссертационного исследования, которое представляет собой важное для развития биофизики и физиологии научное достижение, связанное с раскрытием роли холестерина в экзо-эндоцитозном цикле синаптических везикул и процессах освобождения нейромедиатора из пресинаптических нервных окончаний. В заключение отмечается, что по актуальности, объему, новизне, теоретической и практической значимости диссертация полностью соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальностям 03.01.02 – биофизика и 03.03.01 – физиология.

Соискатель имеет 57 опубликованных работ по теме диссертации, в том числе 18 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК. Наиболее значимые работы по теме диссертации (авторский вклад в стр.):

1. Petrov A.M. Increased non-quantal release of acetylcholine after inhibition of endocytosis by methyl- β -cyclodextrin: the role of vesicular acetylcholine transporter / A.M. Petrov, N.V. Naumenko, K.V. Uzinskaya, A.R. Giniatullin, A.K. Urazaev, A.L. Zefirov // *Neuroscience*. – 2011. – V. 186. - P. 1-12. (13/10)
2. Petrov A.M. Role of membrane cholesterol in spontaneous exocytosis at frog neuromuscular synapses: ROS calcium interplay / A.M. Petrov, A.A. Yakovleva, A.L. Zefirov // *Journal of Physiology*. – 2014. – V. 592. - P. 4995-5009. (15/13)
3. Kasimov M.R. Effects of 5 α -cholestan-3-one on the synaptic vesicle cycle at the mouse neuromuscular junction / M.R. Kasimov, A.R. Giniatullin, Zefirov, A.M. Petrov // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*. – 2015. – V. 1851. - № 5. – P. 674-685. (11/8)
4. Petrov A.M. Inhibition of protein kinase C affects on mode of synaptic vesicle exocytosis due to cholesterol depletion / A.M. Petrov, G.F. Zakyrtjanova, A.A. Yakovleva, A.L. Zefirov // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2015. - V. 456. - № 1. - P. 145-150. (6/5)

На диссертацию и автореферат поступил 21 положительный отзыв от: зав. лаб. ФИЦ ИЦиГ СО РАН, чл-корр. РАН, д.б.н. Дыгало Н.Н. и с.н.с., к.б.н. Меньшанова П.Н.; г.н.с. НИИ Молекулярной биологии и Биофизики СО РАН, Акад. РАН, проф., д.б.н. Штарка М.Б.; г.н.с. Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, д.б.н. Ковальзона В.М.; в.н.с. OpenLab “Нейробиология” ИФБиМ КФУ, проф., д.м.н. Хазипова Р.Н.; зав. лаб. нейрохимических механизмов обучения и памяти Института ВНД и нейрофизиологии РАН, д.б.н. Базяна А.С.; г.н.с. лаб. экспериментальной нейробиологии ЮФУ, проф., д.б.н. Сухова А.Г.; проф. кафедры нормальной физиологии с биофизикой ЯГМУ, д.б.н. Филиппова И.В. и зав. этой же кафедры, проф., д.б.н. Маслюкова П.М.; зав. каф. биохимии Южно-Уральского ГМУ, д.б.н., проф. Цейликмана В.Э.; зав. каф. патологической физиологии ИжГМА, проф., д.м.н. Брындиной И.Г.; зав. каф. нормальной физиологии ИжГМА, проф., д.м.н. Исаковой Л.С.; зав. лаб. структуры и функции мышечных белков ИТЭБ РАН, д.б.н. Вихлянцева И.М.; зав. каф. нормальной физиологии СамГМУ, проф., д.м.н. Пятин В.Ф.; с.н.с. Института биофизики и клеточной инженерии НАНБ (Минск), доц., к.б.н. Федорович С.В.; зав. лаб. молекулярных взаимодействий Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, д.б.н. Зайцева А.В., рук. лаб. сравнительной нейрофизиологии того же института, д.б.н. Антонова С.М.; зав. лаб. генетического моделирования нейродегенеративных процессов ИФАВ РАН, д.м.н. Нинкиной Н.Н., зав. лаб. нейрорецепции ИФАВ РАН, д.б.н. Григорьева В.В.; зав. лаб. ионных механизмов клеточной сигнализации Института цитологии РАН, д.б.н. Негуляева Ю.А.; зав. сектором молекулярной физиологии клетки ИЦиГ СО РАН д.б.н. Соленова Е.И.; проф. кафедры общей физиологии СпГУ, д.б.н. Кривого И.И., автору адресован вопрос (...не были ли пресинаптические эффекты метил- β -циклодекстрина хотя бы отчасти обусловлены иными последствиями его применения, например, изменением потенциала покоя?).

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что оппоненты являются высокопрофессиональными специалистами в данной области и имеют научные работы, опубликованные в центральных рецензируемых российских и зарубежных журналах, относящихся к тематике защищаемой диссертации, а ведущая организация является признанным центром, занимающимся решением проблем в области биофизики и физиологии синаптических процессов.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана концепция, описывающая роль мембранного холестерина в протекании пресинаптического экзо-эндоцитозного цикла и процессов квантовой (вызванной и спонтанной) и неквантовой секреции медиатора из двигательных нервных окончаний;

предложены гипотеза участия липидных рафтов пресинаптической и везикулярных мембран в цикле синаптических везикул, гипотеза формирования баланса вызванной/спонтанной/невезикулярной секреции зависимым от холестерина путем, выявлена связь пресинаптических везикулярных процессов с состоянием холестерина (окисленное или нет); предложены конкретные механизмы холестерин-зависимого контроля спонтанного экзоцитоза и неvesикулярного освобождения ацетилхолина;

доказана: высокая чувствительность этапов везикулярного цикла (экзо- и эндоцитоза, транспорта везикул и их организации в пулы) и процессов освобождения медиатора к удалению и окислению мембранного холестерина, и к 5α -холестан-3-ону; доказано участие сигнальных молекул (активных форм кислорода, цитозольного кальция, протеинкиназы C) в усилении спонтанного экзоцитоза, а везикулярного транспортера ацетилхолина в усилении неvesикулярной секреции ацетилхолина при удалении части холестерина из мембран; показано, что наиболее холестерин-зависимыми процессами являются эндоцитоз и рециклирование везикул, а также вызванное и неvesикулярное освобождение медиатора.

Теоретическая значимость работы обоснована тем, что ее результаты существенно расширяют представления о роли холестерина в синаптической передаче. Применительно к проблематике диссертации результативно использованы разнообразные оптические и электрофизиологические микроэлектродные методы. Изложены положения, описывающие значение холестерина и его окисления в протекании пресинаптических процессов, обеспечивающих освобождение медиатора. Раскрыты эффекты удаления и окисления мембранного холестерина, а также оксистерола (5α -холестан-3-она) на протекание ключевых этапов цикла синаптических везикул, процессы освобождения медиатора и свойства синаптических мембран. Получены данные о механизмах изменения спонтанного экзоцитоза и невезикулярного освобождения нейромедиатора при удалении холестерина мембран. Произведена модернизация экспериментального подхода, позволяющего детектировать освобождение медиатора через пору слияния.

Значение полученных соискателем результатов исследований для практики подтверждается тем, что снижение содержания холестерина в синаптических мембранах, его окисление и усиленное образование оксистеролов могут происходить в ходе старения, применения корректирующих обмен холестерина препаратов (статинов), на ранней стадии нейродегенеративных заболеваний, поэтому обнаруженные автором изменения пресинаптических процессов могут вносить вклад в развитие дисфункции синаптической передачи, которая предшествует нейродегенерации. Полученные соискателем результаты могут быть использованы при чтении курсов лекции по биофизике и физиологии, и представляют несомненную ценность для широкого круга специалистов, занятых в области биофизики, физиологии, нейробиологии и фармакологии.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что результаты получены на современном оборудовании с применением адекватных подходов в оптимальных конфигурациях, статистическая обработка проведена корректно. Заключительные положения построены на

перекрестном анализе собственных и литературных данных. Всё это в комплексе позволяет считать полученные результаты достоверными, а выводы обоснованными. Эксперименты проведены в строго стандартизированных условиях и с соблюдением правил работы с лабораторными животными.

Личный вклад соискателя состоит в том, что автор самостоятельно определил задачи и концепцию исследования, планировал протоколы всех экспериментов, непосредственно участвовал в выполнении экспериментов совместно с сотрудниками КГМУ (Гиниатуллиным А.Р., Науменко Н.В., Захаровым А.В.) и студентами (Касимовым М.Р., Яковлевой А.А., Кудряшовой К.Е., Закирьяновой Г.Ф.). Петров А.М. принимал основное участие в обработке экспериментальных данных, их анализе и оформлении публикации по теме диссертации, в том числе в изданиях, рекомендованных ВАК, в большей части которых Петров А.М. является первым или последним корреспондирующим автором.

На заседании 15 июня 2016 г. диссертационный совет принял решение присудить Петрову А.М. ученую степень доктора биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 9 докторов наук по специальности 03.01.02 - биофизика и 5 докторов наук по специальности 03.03.01 - физиология, участвовавших в заседании, из 21 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 5 человек, проголосовали: за - 20, против - нет, недействительных бюллетеней - нет.

Председатель диссертационного совета

Академик РАН, д.т.н.

Гречкин Александр Николаевич

Ученый секретарь

диссертационного совета, к.б.н.

Пономарёва Анастасия Анатольевна

«16» июля 2016 г.

