

УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального  
государственного бюджетного  
учреждения науки Федеральный  
исследовательский центр «Казанский  
научный центр Российской академии  
наук»



профессор РАН Калачев А.А.

” февраля 2022 г.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

### **Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук»»**

Диссертация на тему «Механизмы действия 25-гидроксихолестерина и олесоксима на синаптическую передачу в нервно-мышечном соединении мышцы» выполнена в лаборатории биофизики синаптических процессов Казанского института биохимии и биофизики – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук».

В период подготовки диссертации соискатель Закирьянова Гузалия Фаритовна работала в Казанском институте биохимии и биофизики – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук» в должности младшего научного сотрудника. Также Закирьянова Г.Ф. по совместительству являлась научным сотрудником Института нейронаук ФГБОУ ВО Казанского ГМУ Минздрава России.

В 2017 году с отличием окончила ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет» по направлению подготовки 06.06.01 «Биология» по профилю «Нейробиология, психофизиология». В период с 01.09.2017 по 31.08.2021 гг. обучалась в Казанском институте биохимии и биофизики – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук» в очной аспирантуре по направлению подготовки 06.06.01. Биологические науки, специальность 03.03.01 «Физиология».

Справка о сдаче кандидатских экзаменов выдана в 2022 г. Федеральным государственным бюджетным учреждением науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук».

Научный руководитель – Петров Алексей Михайлович, Казанский институт биохимии и биофизики Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук», доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник.

**По итогам обсуждения принято следующее заключение:**

Диссертационная работа Закирьяновой Г.Ф. посвящена исследованию эффектов производных форм холестерина на процессы нейротрансмиссии и выполнена на стыке двух специальностей биофизики и физиологии. Биофизика и физиология – смежные дисциплины, и для исследования синаптических процессов зачастую используются биофизические методы, а именно электрофизиологические и оптические. К тому же ключевым процессом нейротрансмиссии является экзо-эндоцитоз синаптических везикул и биофизика мембран являются областями исследований специальности «Биофизика». В диссертационной работе с использованием биофизических подходов были раскрыты новые физиологические аспекты нервно-мышечной передачи. Исходя из этого, диссертационная работа соискателя Закирьяновой Г.Ф. выдвигается на защиту по специальностям 1.5.2 – «Биофизика» и 1.5.5 – «Физиология человека и животных».

Полученные в работе данные раскрывают новые пути модуляции нервно-мышечной передачи, а также свойств синаптических мембран. В будущем эти результаты могут внести вклад в разработку терапевтических подходов для коррекции двигательных нарушений, возникающих при боковом амиотрофическом склерозе и воспалительных процессах, соответственно, материалы диссертационной работы имеют как фундаментальное, так и прикладное значение.

**Личный вклад соискателя в исследование.**

Закирьянова Г.Ф. непосредственно принимала участие в планировании исследования, разработке схем экспериментов, выполнении экспериментов, обработке и анализе полученных данных. Оформление публикаций проходило при личном участии соискателя.

**Достоверность полученных данных.**

Использованные методы и подходы соответствуют поставленной цели и задачам. В экспериментах применены несколько методов, позволяющих оценить взаимосвязанные аспекты синаптической передачи: оптический метод с использованием красителя для оценки экзо-эндоцитоза, индикаторы сигнальных молекул и метки на липидное окружение мембраны; иммуногистохимия и электрофизиологический метод, а также

фармакологический подход с использованием селективных блокаторов. В качестве модели бокового амиотрофического склероза использовались трансгенные мыши с экспрессией мутантной человеческой супероксиддисмутазы-1 (в 93 кодоне глицин заменен на аланин). Полученные результаты корректно обработаны статистически, их достоверность не вызывает сомнения.

#### **Научная новизна исследования.**

В работе впервые изучены механизмы действия двух производных холестерина, 25-гидроксихолестерина (25ГХ) и олесоксима, на синаптическую передачу в нервно-мышечном соединении. Показано, что в субмикромольных концентрациях 25ГХ усиливает мобилизацию синаптических везикул и последующую секрецию нейромедиатора, а олесоксим, наоборот, угнетает рекрутирование везикул в экзоцитоз при интенсивной активности. Впервые обнаружено участие LX-рецепторов в усиливающем экзоцитоз нейромедиатора и мобилизацию синаптических везикул эффе́кте 25ГХ. Стимуляция этих рецепторов 25-гидроксихолестерином приводит к активации сигнального пути  $G_i$ -белок /  $\beta\gamma$ -димер G-белка / фосфолипаза C /  $Ca^{2+}$  / протеинкиназа C. До этого LX-рецепторы не рассматривались как регуляторы синаптической передачи. Расшифровка механизма, опосредованного олесоксимом подавления экзоцитоза нейромедиатора и рециклирования синаптических везикул, позволила обнаружить новый механизм пресинаптического ингибирования, основанный на изменении анионной (хлорной) проницаемости мембраны за счет активации анионного транспортного белка. Получены приоритетные данные о способности 25ГХ предотвращать нарушения нервно-мышечного соединения (в том числе свойств синаптических мембран), возникающие на ранней стадии заболевания у мышей с моделью бокового амиотрофического склероза.

#### **Научно-практическая ценность.**

В работе показано, что 25ГХ и олесоксим в субмикромольных концентрациях имеют выраженные эффекты на нервно-мышечную передачу, в частности на пресинаптические процессы экзоцитоза и мобилизацию синаптических везикул. Раскрытие механизмов действия этих стероидов позволило обнаружить новые пути регуляции нервно-мышечной передачи, что может быть применено в разработке методов модуляции синаптической передачи при двигательных и нейродегенеративных заболеваниях. Основываясь на полученных в работе фактах, можно утверждать, что производные холестерина являются важным классом нейромодуляторов, которые можно использовать для коррекции нервно-мышечных дисфункций. Результаты научной работы вносят вклад в концепцию о производных холестерина, как мощных регуляторов физиологических процессов.

### **Апробация работы.**

По теме диссертации опубликовано 20 печатных работ, из них 11 статей в рецензируемых изданиях, входящих в международные базы цитирования.

Результаты диссертации представлены на следующих всероссийских и международных конференциях: I всероссийская конференция и школа с международным участием "Оптогенетика и оптофармакология" (Санкт-Петербург, 2018); всероссийская научно-практическая конференция с международным участием "Фундаментальная и клиническая электрофизиология сердца" (Казань, 2018); FENS Forum (Berlin, Germany, 2018); всероссийская с международным участием школа-конференция молодых ученых "Биосистемы: организация, поведение, управление" (Нижний Новгород, 2019, 2021); международный молодежный научный форум "ЛОМОНОСОВ-2019" (Москва, 2019), X всемирный конгресс нейробиологов IBRO (Южная Корея, 2019; Польша, 2020); VII молодёжная школа-конференция по молекулярной и клеточной биологии Института цитологии РАН (Москва, 2020).

Основное содержание работы отражено в следующих публикациях:

1. **Zakyrjanova, G.F.** Early differences in membrane properties at the neuromuscular junctions of ALS model mice: Effects of 25-hydroxycholesterol / G.F. Zakyrjanova, A.R. Giniatullin, K.A. Mukhutdinova, E.A. Kuznetsova, A.M. Petrov // *Life Sci.* – 2021. – Vol.273. – P.119300. (Scopus Q1, WoS Q1).
2. **Zakyrjanova, G.F.** Immune-related oxysterol modulates neuromuscular transmission via non-genomic liver X receptor-dependent mechanism / G.F. Zakyrjanova, A.N. Tsentsevitsky, E.A. Kuznetsova, A.M. Petrov // *Free Radic Biol Med.* – 2021. – Vol.174. – P.121-134. (Scopus Q1, WoS Q1).
3. **Zakyrjanova, G.F.** Olesoxime, a cholesterol-like neuroprotectant restrains synaptic vesicle exocytosis in the mice motor nerve terminals: Possible role of VDACs / G.F. Zakyrjanova, A.I. Gilmutdinov, A.N. Tsentsevitsky, A.M. Petrov // *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids.* – 2020. – Vol.1865, №9. – P.158739. (Scopus Q1, WoS Q1).

Диссертационная работа Закирьяновой Г.Ф. на тему «Механизмы действия 25-гидроксихолестерина и олесоксима на синаптическую передачу в нервно-мышечном соединении мышцы» несомненно является актуальной, обладает научной новизной, научно-практической значимостью, выполнена с использованием современных методов, имеет обоснованные положения и выводы, достоверность результатов подтверждается достаточным количеством данных, материал диссертационной работы изложен корректно и последовательно, поэтому считаем, что данное исследование является завершённой научно-квалификационной работой.

Работа соответствует области исследования «Биофизика клетки: биофизика мембран, биофизика ионных каналов» паспорта специальности 1.5.2 – «Биофизика» и областям исследований «Анализ механизмов нервной и гуморальной регуляции, генетических, молекулярных, биохимических процессов, определяющих динамику и взаимодействие физиологических функций», «Исследование закономерностей функционирования основных систем организма (нервной, иммунной, сенсорной, двигательной, крови, кровообращения, лимфообращения, дыхания, выделения, пищеварения, размножения, внутренней секреции и др.)» паспорта специальности 1.5.5 – «Физиология человека и животных».

Диссертационное исследование удовлетворяет всем требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук и рекомендуется к защите по специальностям 1.5.2 – «Биофизика» и 1.5.5 – «Физиология человека и животных».

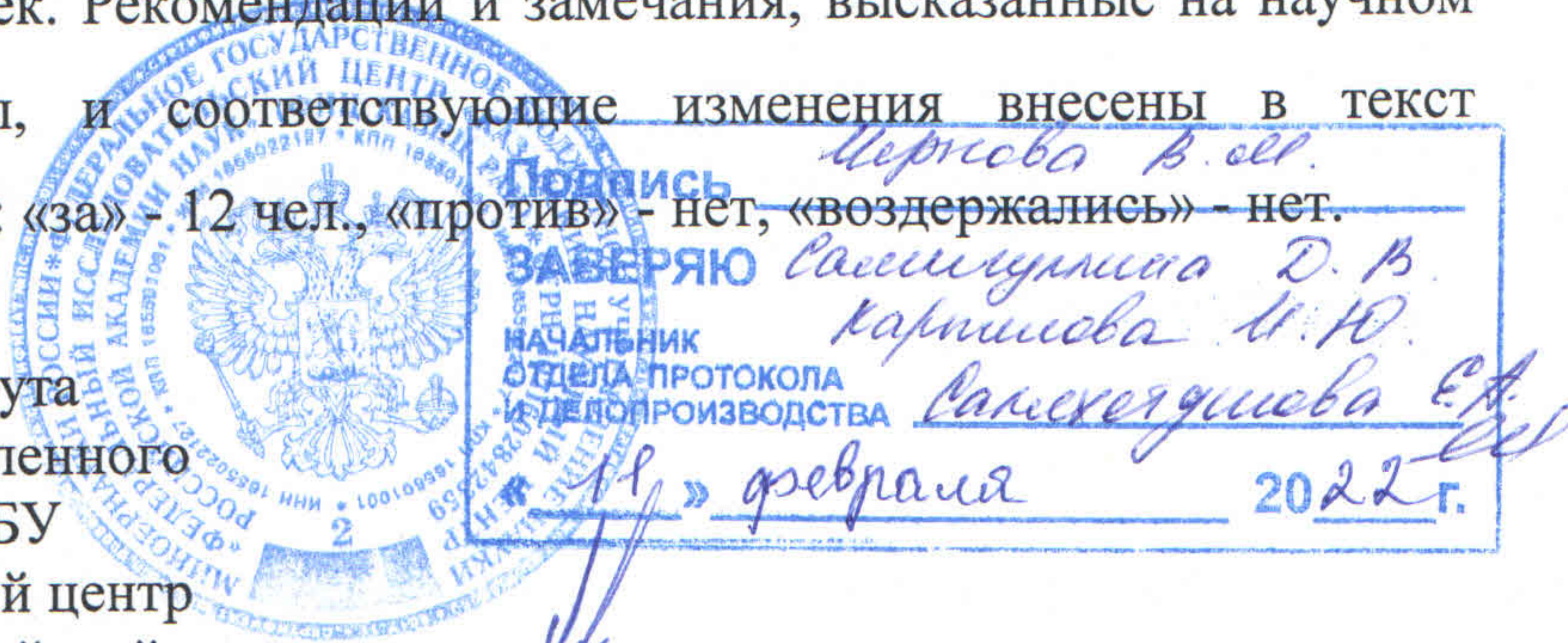
Заключение принято на расширенном научном семинаре отделов Медико-биологических исследований, Клеточной сигнализации, Физиологии и молекулярной биологии растений КИББ ФИЦ КазНЦ РАН, кафедры Физиологии человека и животных и НИЛ Нейробиологии Казанского (Приволжского) федерального университета, кафедры Нормальной физиологии Казанского государственного медицинского университета (протокол № 1 от 09.02.2022 г.) и рекомендовано Ученому совету с просьбой утвердить и выдать Заключение по диссертационной работе Закирьяновой Г.Ф.. На заседании присутствовало 33 человека. Итоги голосования: «за» - 33 чел., «против» - нет, «воздержались» - нет.

Заключение рекомендовано к утверждению на заседании Ученого совета КИББ ФИЦ КазНЦ РАН (протокол № 2 от 09.02.2022 г.). Из 16 членов списочного состава Ученого совета присутствовали 12 человек. Рекомендации и замечания, высказанные на научном семинаре, соискателем учтены, и соответствующие изменения внесены в текст диссертации. Итоги голосования: «за» - 12 чел., «против» - нет, «воздержались» - нет.

Руководитель Казанского института биохимии и биофизики – обособленного структурного подразделения ФГБУ «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук»» д.б.н., профессор

Председатель заседания научного семинара зав. лабораторией биофизики синаптических процессов к.б.н., с.н.с.

Ученый секретарь института, к.б.н.



Чернов В.М.

Самигуллин Д.В.

Карпилова И.Ю.