

Протокол № 100
заседания диссертационного совета Д 212.038.03 по защите
кандидатской диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук
от 03.06.2021 г.

Состав диссертационного совета утвержден в количестве 19 человек.
Присутствовало на заседании 14 человек, в том числе по специальности
– 5 докторов наук.

Председатель: д.б.н., профессор Артюхов Валерий Григорьевич

Присутствовали: д.б.н., профессор Артюхов Валерий Григорьевич,
д.м.н., профессор Алабовский Владимир Владимирович, д.б.н., профессор
Вашанов Геннадий Афанасьевич, д.б.н., профессор Грабович Маргарита
Юрьевна, д.б.н., профессор Епринцев Александр Трофимович, д.б.н.,
профессор Ершова Антонина Николаевна, д.б.н., профессор Калаев
Владислав Николаевич, д.б.н., профессор Корнеева Ольга Сергеевна, д.б.н.,
профессор Наквасина Марина Александровна, д.б.н., профессор Пашков
Александр Николаевич, д.б.н., профессор Попов Василий Николаевич, д.б.н.,
профессор Попова Татьяна Николаевна, д.б.н., профессор Путинцева Ольга
Васильевна, д.б.н., доцент Холявка Марина Геннадьевна.

Официальные оппоненты:

- Мухина Ирина Васильевна, доктор биологических наук, профессор,
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования "Национальный исследовательский Нижегородский
государственный университет им. Н.И. Лобачевского", Институт биологии и
биомедицины, кафедра нейротехнологий, профессор – присутствовала.

- Сурин Александр Михайлович, доктор биологических наук,
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-
исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»,
лаборатория фундаментальных и прикладных проблем боли, главный
научный сотрудник – присутствовал.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр
биологических исследований Российской академии наук», Институт
биофизики клетки Российской академии наук

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 212.038.03,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ «ВОРОНЕЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»,
МИНОБРНАУКИ РОССИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ
СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 03.06.2021 г. № 100

О присуждении Хайтину Андрею Михайловичу ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Участие ионов кальция в выживании и смерти нейронов и глиальных клеток после аксотомии» по специальности 03.01.02 – Биофизика была принята к защите 31.03.2021 г., протокол №97, диссертационным советом Д 212.038.03, созданном на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет» Минобрнауки России, 394018, г. Воронеж, Университетская пл., 1; приказ № 717/нк от 09.11.2012.

Соискатель Хайтин Андрей Михайлович, 1984 года рождения, работает научным сотрудником лаборатории «Молекулярная нейробиология» Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Южный федеральный университет» Минобрнауки России.

В 2005 году окончил бакалавриат государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Ростовский государственный университет» по направлению «Физика».

В 2007 году окончил магистратуру Федерального государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Южный федеральный университет» по направлению «Физика».

Диссертация выполнена в лаборатории «Молекулярная нейробиология» Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Южный федеральный университет» Минобрнауки России.

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор Узденский Анатолий Борисович, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Южный федеральный

университет», Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, лаборатория «Молекулярная нейробиология», заведующий.

Официальные оппоненты:

- Мухина Ирина Васильевна, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского", Институт биологии и биомедицины, кафедра нейротехнологий, профессор
- Сурин Александр Михайлович, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», лаборатория фундаментальных и прикладных проблем боли, главный научный сотрудник
- дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», Институт биофизики клетки Российской академии наук, Пушкино, Московская область, в своем положительном заключении, подписанном заведующим лабораторией молекулярной физиологии клетки доктором биологических наук, профессором Колесниковым Станиславом Сергеевичем, указала, что диссертационное исследование Хайтина А.М. по своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости полностью соответствует всем требованиям («Положение о порядке присуждения ученых степеней» Постановление Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. N 842 в действующей редакции от 01 октября 2018 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – «Биофизика».

Соискатель имеет 27 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 25 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 10 работ.

Все работы посвящены проблемам выживания и гибели нейронов и глиальных клеток при воздействии аксотомии и модуляторов кальций-зависимых сигнальных путей в препаратах рецептора растяжения рака. Общий объем – 2,2 печатных листа. Авторский вклад составляет 90%.

Наиболее значительные научные работы:

1. Khaitin A.M. The method of isolation of the crayfish abdominal stretch receptor maintaining a connection of the sensory neuron to the ventral nerve cord ganglion / Khaitin A.M., Rudkovskii M. V., Uzdensky A.B. // *Invertebrate Neuroscience* – 2015. – V. 15, N. 176 – P. 1–10.
2. Khaitin A. Ca^{2+} mediates axotomy-induced necrosis and apoptosis of satellite glial cells remote from the transection site in the isolated crayfish mechanoreceptor / Khaitin A., Rudkovskii M., Uzdensky A. // *Molecular and Cellular Neuroscience* – 2018. – V. 88 – P. 7–15.
3. Узденский А.Б. Реакции нейронов и глиальных клеток речного рака на фотодинамическое воздействие: сигнальная регуляция, ультраструктурные изменения и нейроглиальные взаимодействия / А.Б. Узденский, М.В. Рудковский, Г.М. Федоренко, Е.В. Бережная, И.А. Ищенко, В.Д. Ковалева, М.А. Командиров, М.А. Негинская, А.М. Хайтин, С.А. Шарифулина // *Биологические Мембраны: Журнал мембранной и клеточной биологии.* – 2013. – Т. 30, № 5. – С. 334–349.

На диссертацию и автореферат поступило 4 положительных отзыва от: 1) Добаевой Н.М., к.х.н., доцента, заведующей кафедрой общей и клинической биохимии №2 ФГБОУ ВО МЗ России РостГМУ; 2) Самигуллина Д.В., к.б.н., ведущего научного сотрудника, заведующего лабораторией биофизики синаптических процессов отдела медико-биологических исследований Казанского института биохимии и биофизики, обособленного научного подразделения Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук»; 3) Семьянова А.В., д.б.н. член-корр. РАН, заведующего Отделом молекулярной нейробиологии и Лабораторией внесинаптической передачи Института биоорганической химии им. Академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской Академии наук; 4) Ермакова А.М., д.б.н., профессора, декана факультета «Биоинженерия и ветеринарная медицина» ФГБОУ ВО «Донской государственный технический университет».

Все отзывы положительные, в них отмечается актуальность работы, научная новизна, теоретическая и практическая значимость результатов. Замечания носят рекомендательный характер.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их компетентностью по тематике диссертационного исследования, наличием публикаций по данной тематике в рецензируемых научных изданиях, включенных в перечень ВАК Минобрнауки России, содержанием

диссертационной работы и формулой паспорта специальности «03.01.02 — Биофизика».

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана новая научная концепция об участии кальций-зависимых механизмов в реакции нейронов и удаленных глиальных клеток на повреждение, вызванное аксотомией;

предложен новый способ изоляции вентрального механорецепторного органа рака, сохраняющий целостность аксонов тонического и фазического рецепторов и их связь с ганглием брюшной нервной цепочки, который может служить полноценным контролем для изучения клеточно-молекулярных процессов, индуцированных аксотомией в нейроне и сателлитной глии;

доказано, что аксотомия индуцирует повышение концентрации кальция в проксимальной к механорецепторному нейрону сателлитной глии, не затрагиваемой механическим повреждением, что, в свою очередь, стимулирует некроз и апоптоз глии, а также ускорение функциональной инактивации нейрона, регулируемые кальций-зависимыми факторами: внеклеточным кальцием, кальциевыми и кальций-зависимыми калиевыми каналами, кальций-активируемыми белками;

введены новые представления о механизме индуцированного аксотомией кальциевого ответа и изменения кальциевого гомеостаза нейронов и глии при удаленном механическом повреждении.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказаны положения диссертационной работы: показано, что аксотомия ускоряет функциональную инактивацию нейронов и стимулирует смерть сателлитной глии вдали от места повреждения, ионы Ca^{2+} играют в этом существенную роль. Повышенная внеклеточная концентрация Ca^{2+} при аксотомии стимулирует апоптоз удаленной глии, но защищает ее от некроза. Перерезание аксона вызывает повышение концентрации Ca^{2+} в нейроне и его сателлитной глии вдали от места повреждения. Индуцированное аксотомией повышение концентрации Ca^{2+} в цитозоле стимулирует некроз и апоптоз удаленной глии, также, в том числе путем входа ионов Ca^{2+} через Ca^{2+} каналы плазмалеммы, ускоряя функциональную инактивацию нейронов. При аксотомии высокопроницаемые поры митохондрий поддерживают функциональную активность нейрона, работа Ca^{2+} -АТФазы эндоплазматического ретикулума защищает глию от апоптоза и некроза,

рианодиновые рецепторы защищают глию от апоптоза, но усиливают ее некроз, кальций-зависимые K^+ каналы и протеинкиназа С защищают удаленную глию от апоптоза, однако, протеинкиназа С и кальмодулинкиназа II участвуют в некрозе глии.

Применительно к проблематике диссертации результативно (эффективно, то есть с получением обладающих новизной результатов)

использованы методы ингибиторного анализа влияния аксотомии на выживание и смерть нейронов и глиальных клеток, флуоресцентно-микроскопическое исследование некроза и апоптоза нейронов и глиальных клеток механорецептора речного рака, методы прижизненной регистрации параметров нейронов и сателлитных глиальных клеток с помощью флуоресцентных зондов, методы регистрации электрофизиологических реакций нейронов и глиальных клеток на аксотомию;

изложены доказательства того, что аксотомия вызывает в удаленных глиальных клетках повышение уровня внутриклеточного кальция, который опосредует их индуцируемый аксотомией некроз или апоптоз, дифференцированно регулируемые кальций-зависимыми сигнальными механизмами;

раскрыт ряд кальций-зависимых механизмов реакции нервных клеток на повреждение, вызванное аксотомией;

изучены индуцированные аксотомией кальциевые сигнальные процессы в нейронах и удаленных глиальных клетках, ведущие к выживанию либо апоптотической или некротической клеточной гибели;

проведена модернизация методов подготовки экспериментальных препаратов, позволяющая получать полноценные контроли для изучения воздействия аксотомии на нейроны и глиальные клетки.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработан новый комплексный подход к изучению клеточно-молекулярных последствий нейротравм, включающий электрофизиологические и флуоресцентные методы прижизненной регистрации параметров нервных клеток, применение комплексного флуорохромирования для дифференцированной визуализации различных типов клеточной смерти, использование интактного способа изоляции модельных объектов, позволяющего сохранять анатомическую целостность и функциональность сигнальной трансдукции в механорецепторном органе рака, либо в

экспериментальном порядке нарушать ее путем контролируемой перерезки аксона;

определены возможности практического использования полученных результатов, которые могут служить основой для разработки новых подходов к фармакологической протекции непосредственно после травматического повреждения нервов с применением модуляторов кальциевого сигнального пути;

создана концептуальная схема механизма участия ионов кальция в реакции нейронов и удаленных глиальных клеток при повреждении аксонов.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ результаты воспроизводимы, получены на сертифицированном оборудовании, подвергнуты статистической обработке при использовании лицензионных компьютерных программ;

теория построена на новых экспериментальных данных и согласуется с опубликованными экспериментальными результатами по исследованиям кальций-зависимых сигнальных механизмов в нервной ткани при патологиях, связанных с нейротравмой;

идея базируется на анализе полученных экспериментальных данных и практике мирового опыта по изучению нарушений кальциевого гомеостаза и гибели нервных клеток при травмах нервной системы;

использованы сравнения авторских результатов и данных, полученных ранее при изучении эффектов веществ, модулирующих кальций-зависимые сигнальные пути в клетке;

установлено, что полученные автором результаты согласуются с имеющимися данными по изучению кальций-зависимых механизмов некроза и апоптоза и клеточному ответу на аксотомию и нейротравму в целом;

использованы современные методики сбора и математической обработки исходной информации, обоснован подбор объектов наблюдения и измерения.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии автора в разработке программы исследований, постановке и проведении лабораторных экспериментов, статистической обработке и интерпретации экспериментальных данных по изучению участия ионов кальция в индуцированных аксотомией процессах в нейронах и сателлитной глии рецептора растяжения речного рака, разработке метода изоляции интактного контроля и подготовке основных

публикаций по выполненной работе. Материалы диссертации были доложены на всероссийских и международных научно-практических конференциях.

Диссертация, представленная на соискание ученой степени кандидата наук, является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи по изучению процессов, приводящих к нарушению кальциевого гомеостаза и последующей гибели нейронов и окружающих их глиальных клеток вследствие аксотомии, что имеет важное значение для разработки новых методов экстренной фармакологической нейропротекции.

В диссертации Хайтина А.М. соблюдены установленные Положением о присуждении ученых степеней критерии, которым должна отвечать диссертация на соискание ученой степени кандидата наук.

В диссертации Хайтина Андрея Михайловича отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

На заседании 03.06.2021 г. диссертационный совет принял решение присудить Хайтину А.М. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 14 человек, из них 5 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 19 человек, входящих в состав совета, проголосовали: «за» - 14, «против» - нет, недействительных бюллетеней - нет.

Председатель
диссертационного совета



Артюхов Валерий Григорьевич

Учёный секретарь
диссертационного совета

Грабович Маргарита Юрьевна

3 июня 2021 г.