

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт биоорганической химии  
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова  
Российской академии наук

## **СТЕНОГРАММА**

заседания Диссертационного совета Д 002.019.01 при ИБХ РАН

«23» сентября 2020 года

Защита диссертации на соискание ученой степени доктора химических наук

**Шелухиной Ирины Валерьевны**

**по теме: «Никотиновые и родственные рецепторы нейромедиаторов:  
механизмы функциональной активности и новые лиганды»**

Специальность 02.00.10 – биоорганическая химия

Москва 2020

## СТЕНОГРАММА

заседания Диссертационного совета Д 002.019.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук от 23 сентября 2020 года.

Председатель диссертационного совета  
академик РАН

Иванов В.Т.

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор физико-математических наук

Олейников В.А.

Из 30 членов совета присутствует 21 человек, из них докторов по профилю диссертации – 9.

1.	Академик РАН	Иванов Вадим Тихонович	(02.00.10)
2.	Д.физ.-мат.н.	Ефремов Роман Гербертович	(02.00.10)
3.	Член-корр. РАН	Липкин Валерий Михайлович	(03.01.06)
4.	Д.физ.-мат.н.	Олейников Владимир Александрович	(03.01.06)
5.	Д.х.н.	Арсеньев Александр Сергеевич	(02.00.10)
6.	Д.х.н.	Бовин Николай Владимирович	(03.01.06)
7.	Академик РАН	Габибов Александр Габибович	(03.01.06)
8.	Д.б.н.	Долгих Дмитрий Александрович	(03.01.03)
9.	Член-корр. РАН	Завриев Сергей Кириакович	(03.01.06)
10.	Д.б.н.	Зарайский Андрей Георгиевич	(03.01.03)
11.	Д.х.н.	Зубов Виталий Павлович	(03.01.06)
12.	Академик РАН	Мирошников Анатолий Иванович	(03.01.06)
13.	Д.х.н.	Овчинникова Татьяна Владимировна	(02.00.10)
14.	Д.б.н.	Патрушев Лев Иванович	(03.01.06)
15.	Д.б.н.	Сапожников Александр Михайлович	(03.01.03)
16.	Д.х.н.	Смирнов Иван Витальевич	(02.00.10)
17.	Д.х.н.	Уткин Юрий Николаевич	(02.00.10)
18.	Член-корр. РАН	Цетлин Виктор Ионович	(02.00.10)
19.	Д.х.н.	Шахпаронов Михаил Иванович	(02.00.10)
20.	Д.б.н.	Шпаковский Георгий Вячеславович	(03.01.03)
21.	Д.х.н.	Ямпольский Илья Викторович	(02.00.10)

**Председатель:** Дорогие коллеги, доброе утро! Прошу рассаживаться. Мне докладывали, что кворум набрался, и мы имеем все основания приступить к работе, что я и предлагаю сделать. Да и пара секунд тоже, чтобы аудитория расселась по местам. Значит вашему вниманию предлагается, я бы сказал так, расширенная повестка дня, две защиты – одна докторская и одна кандидатская. Понятное дело, за прошедшие полгода накопилось много готовых к защите работ и поэтому мы сейчас работаем в некоем форсированном режиме. Именно поэтому начинаем сегодня не с привычных 11:00, а с 10:00, что может быть и разумно. Итак, да и добавочных никаких предложений по поводу. Что, что? Не расслышал

**Ученый секретарь:** Доброе утро нам желает Валерий Михайлович всем.

**Председатель:** Доброе утро, ну что ж, принято, доброе утро. Значит защита Шелухиной Ирины Валерьевны. Приступим к делу. Владимир Александрович, материалы личного дела.

**Ученый секретарь:** *(Кратко излагает материалы личного дела)* Да, материалы личного дела, Ирина Валерьевна Шелухина, гражданка РФ, окончила кафедру биоорганической химии биофака МГУ в 2006 году. С 2005 по 2006 старший лаборант, с 2007 инженер-исследователь, младший научный сотрудник, научный сотрудник. В настоящее время старший научный сотрудник лаборатории молекулярной токсикологии. Все это относится к работе в нашем институте, в институте биоорганической химии. Работа выполнена в лаборатории молекулярной токсикологии института биоорганической химии, в нашем институте, научный консультант диссертационной работы – д.х.н. член-кор. РАН Виктор Ионович Цетлин, заведующий отделом молекулярной нейроиммунной сигнализации ИБХ РАН. По теме диссертации опубликовано 32 печатные работы, в т.ч. 23 статьи в рецензируемых журналах, 3 патента, 1 глава в книге. Объявление о защите и автореферат диссертации размещены на сайте ВАК вовремя, а именно 21 мая 2020 года. И все необходимые документы в «деле» есть.

**Председатель:** Я надеюсь, никаких уточнений не предлагается, все корректно, все правильно, все формальные требования выполнены. И я предоставляю слово диссертанту, Ирина Валерьевна, Вам слово для сообщения о своей работе. Сорок минут.

**Соискатель (Шелухина И.В.):**

*(Излагает основные положения диссертационной работы)*

**Председатель:** Спасибо за доклад. Переходим к обсуждению. У кого есть вопросы? Давайте к микрофону, чтобы всем было слышно.

**Ученый секретарь:** А там есть микрофон.

**Председатель:** Или здесь, или там. Сейчас

**Ефремов Роман Гербертович, д.физ.-мат.н., член совета:** Спасибо за интересный доклад. Если я не ошибаюсь, в качестве одной из целей работы у вас было заявлено исследование аллостерических механизмов передачи сигнала. Вот с точки зрения молекулярной организации рецептора, что вы можете сказать об аллостерике: структура, динамика, т.е. взаимосвязь между разными сайтами? Потому что структура известна и вообще рационализация этих полученных данных, ну, в частности, для трехпетельных токсинов, потому что вы много результатов интересных показывали. Токсины имеют один тип упаковки, там совсем небольшие различия, но тем не менее, очень большие различия ведь в их активности, в их действии. Вот как-то обобщить эти данные по взаимодействию трехпетельных токсинов с разными мишенями, которые тоже очень похожи. В чем специфика? Разные субъединицы, но с точки зрения молекулярной организации можете вы спроектировать супертоксин на основе ваших данных, да, который будет в качестве мишени иметь заданный рецептор? Спасибо

**Соискатель (Шелухина И.В.):** Спасибо большое за вопрос. Действительно в ходе диссертационной работы многие вещества и нейротоксины, и безусловно, трехпетельные белки, и ряд низкомолекулярных веществ, которые были показаны, они имеют аллостерическую компоненту связывания. К сожалению, совсем глубоко до, так сказать, остатков рецептора мы не дошли. Допустим, для нейротоксинов при связывании с ГАМКА-рецепторами мы все-таки предполагаем, что они связываются реально практически в том же самом ортостерическом лиганд-связывающем сайте, просто немного с другими остатками, так скажем. Потому что, допустим, даже при кристаллизации рецепторов или моделей рецепторов, даже с низкомолекулярными вещества, например, тубокурарином, было показано, что в ортостерическом лиганд-связывающем сайте они могут садиться там в трех разных модификациях, причем не сказать что какая-то из них предпочтительна. Поэтому насколько, т.е. точно, конечно, ответить на вопрос, где связывается нейротоксин или где связывается конкретный низкомолекулярный ингибитор, который проявил аллостерический механизм связывания, мы не можем, потому что для этого необходимы дополнительные исследования с мутагенезом, с привлечением каких-то мутантных форм. Но предположить, что все-таки для нейротоксинов вряд ли это был какой-то прямо отдельный аллостерический сайт связывания, мы можем на основании того, что аллостерическая компонента она составляла, ну, там 20 процентов, грубо говоря, из

данных. Поэтому скорее всего сайт связывания расположен очень близко к ортостерическому и механизм просто скорее всего немного отличается. Но безусловно, для точных молекулярных взаимодействий вот этого вот остатка нейротоксина и вот этого вот остатка рецептора нужны дополнительные исследования.

**Председатель:** Спасибо. Еще вопросы есть?

**Козлов Сергей Александрович, д.х.н.:** Ирина, спасибо за доклад и как раз вот этот слайд висит, по которому у меня и вопросы. У меня вот вопрос по аземиопсину. Ну, первое, что бросается в глаза, что не такой уж он и безопасный, все-таки острая токсичность, ну, достаточно токсичный, да. Поэтому вопрос: вот с практической точки зрения он применяется под каким-то строгим надзором? И второй вопрос, ну, то есть, перспектива именно коммерциализации, ну даже не коммерциализации, просто введения, скажем так, в практику. А второй вопрос по поводу его структуры с пролинами. В принципе, пептиды все вот такие нейро, которые активные там, 6-5 аминокислот – это такой минимум, на котором они работают. У вас вот здесь вот очень много еще пролинов и аргининов там на С-конце. Эти вот структуры, вот эти вот пептиды важны для какой-то его стабильности и времени жизни, допустим, в кровотоке или же они реально какую-то функциональную нагрузку несут? Наверняка, вы как-нибудь их укорачивали, смотрели, т.е. вот это подчеркнутые 5 – это, я так понимаю, и есть минимальный остаток такой?

**Соискатель (Шелухина И.В.):** Да, совершенно верно

**Козлов Сергей Александрович, д.х.н.:** То есть вот, и можно ли вот моделируя это, допустим, ну, какие-нибудь варианты были именно снять токсичность? Пускай там будет даже константа упадет, но именно дозу вот по острой токсичности как-то уменьшить?

**Председатель:** У меня к тому же вопрос. Скажите, этот аземиопсин откуда взялся? Это природный токсин или синтетический препарат? Кто его изобретатели? Откуда он взялся?

**Соискатель (Шелухина И.В.):** Да, это токсин, собственно говоря, из вот змеи аземиопсис теа. Ну, его прародитель это Юрий Николаевич (*Уткин Ю.Н., д.х.н., член совета*), тот, кто нашел вот аземиопсин и впервые как раз показал, что вот такой линейный пептид способен быть высокоаффинным ингибитором мышечного типа рецептора. Соответственно, в составе этой работы была поставлена задача именно доклинических испытаний, т.е. оценки его безопасности, его эффективности как миорелаксанта. То есть изначально это была вот работа Юрия Николаевича по нахождению и определению основной мишени действия в организме. Возвращаясь к токсичности, безусловно, все миорелаксанты, которые действуют на мышечный тип рецептора, обладают очень узким

терапевтическим окном. Это как бы общая черта всех миорелаксантов, что логично, потому что они действуют на мышечный тип рецептора, блокируют его, блокируют дыхательную систему, парализуют жертву, т.е., естественно, от этого не уйти. Но мы пытались действительно посмотреть, насколько будет эффективен короткий пептид. То есть сначала был довольно серьезный произведен скрининг разных пептидов в составе аземиопсина и был определен действительно его сайт как бы основного действия, основной аффинности к мышечному типу рецептора, как вот пятичленный пептид. И этот пептид действительно мы попробовали его в качестве миорелаксанта, но, к сожалению, если он был совершенно нетоксичен, то, к сожалению, он был и совершенно неэффективен. Ну не совершенно, но очень сильно утрачивалась и его токсичность, и его эффективность. Поэтому, конечно, в качестве миорелаксанта этот пептид мы не рассматривали как перспективный. Однако на его основе был создан косметический препарат и действительно в клинических испытаниях было показано, что косметический препарат с использованием данного небольшого пептида эффективен для разглаживания морщин, но, к сожалению, как миорелаксант при проведении операций там, т.е. серьезное его фармакологическое применение мы не рассматриваем. Но в качестве такого вот косметического варианта, это да. Еще были варианты с аземиопсином делать его аналоги, пегилированные аналоги. И мы пытались делать разные лекарственные формы аземиопсина, но, к сожалению, как только утрачивалась токсичность, так утрачивалась эффективность. Поэтому, боюсь, что в данном контексте единственным вариантом остался как таковой, в общем-то, аземиопсин, но с теми характеристиками, которые у него есть. Более того на самом деле сейчас была продолжена эта работа уже с проведением реальных операций, но не у человека, конечно, а у баранов. И было показано, что аземиопсин может быть применен, безусловно под строгим надзором, как и любой другой миорелаксант, для проведения операций у животных, т.е. это продолжение этой работы.

**Председатель:** Спасибо, есть ли еще вопросы? Видно все было доложено настолько четко и ясно, вы видите? А, прошу, давайте к микрофону.

**Вульфийус Екатерина Анатольевна, к.б.н.:** Прежде всего, спасибо, действительно интересно и здорово. А вопросы у меня такие коротенькие. Значит, вы...

**Председатель:** Чуть ближе к микрофону, пожалуйста.

**Вульфийус Екатерина Анатольевна, к.б.н.:** Считаете, что изменение характера концентрационной кривой при антагонизме вытеснения мусцимолем с ГАМКА-рецептора

кобраторксина свидетельствует о смешанном типе антагонизма. Вот мне кажется, что прежде всего это неконкурентный антагонизм, потому что снижается максимум действия. Казалось бы, что если два места связывания, то должен был бы быть изгиб на концентрационной кривой. Не может ли быть, что мусцимол, связываясь со своим родным ортостерическим участком, так меняет конформацию рецептора, что кобраторксин диссоциирует от аллостерического участка. Может быть это все-таки неконкурентный антагонизм?

**Соискатель (Шелухина И.В.):** Спасибо за вопрос.

**Вульфийус Екатерина Анатольевна, к.б.н.:** Еще одно. Карбахалин, насколько вот я знаю, как меня учили много-много лет, он не избирательно активирует и мускариновые, и никотиновые рецепторы. Наверное, все-таки стоило бы более что-то избирательное для мускариновых взять?

**Соискатель (Шелухина И.В.):** Спасибо, да, за оба вопроса. Так, сейчас я вернусь к мусцимолу. И, соответственно, да, безусловно, вот эта кривая. Но как вы видите, к сожалению, флуоресцентный анализ, как я изначально говорила, он нами всегда рассматривался, как так сказать, первый этап. То есть полностью полагаться на данные флуоресцентного анализа довольно сложно, потому что даже вот здесь видно, насколько серьезные разбросы, да. И поэтому, когда мы получили вот эту вот кривую с мусцимолем, то сделали такой осторожный для себя вывод, что может быть, это свидетельствует о наличии неконкурентного механизма связывания. Так сказать, более все-таки надёжным методом является электрофизиология в данном случае. И если присмотреться, то как раз в общем-то, возможно, если бы поставили больше точек, как раз получилась бы та самая двухсайтовая кривая, о которой говорит Екатерина Анатольевна. Тут вопрос. Да, возможно немножко не доработали. Но тогда вот как раз получилась бы двухсайтовая кривая по связыванию с двумя сайтами рецептора кобраторксина. Поэтому скорее мы ориентировались именно не на данные по связыванию мусцимола, а на последующие электрофизиологические измерения в данном вопросе, о наличии, соответственно, и ортостерического, и аллостерического механизмов. Так, второй вопрос был по поводу карбамоилхолина. Да, безусловно, карбамоилхолин это, также как и ацетилхолин естественно, т.е. почему использовали карбамоилхолин, просто потому что он более устойчив, чем ацетилхолин в каких-то физиологических условиях. Потому что ацетилхолин, естественно, распадается под действием холинэстераз, причем с довольно сильной скоростью. Но для того, чтобы вычленил из эффектов карбамоилхолина все-таки

действие на никотиновые и мускариновые рецепторы был применен атропин в довольно низкой концентрации. То есть специально я просматривала литературу на тему констант ингибирования. Дело в том, что атропин на самом деле в больших концентрациях ингибирует никотиновые рецепторы, но если его брать в низких концентрациях, то он исключительно действует на мускариновые рецепторы. И таким образом, когда мы соответственно, делали совместную аппликацию карбамоилхолина и атропина и не видели вот этого вот возрастания достоверного, был сделан вывод о том, что все-таки мускариновые рецепторы тоже вносят свой вклад в вот эту вот ноцицептивную сигнализацию. К тому же дополнительно был использован никотин, как именно агонист никотиновых рецепторов, чтобы показать исключительную роль именно их в этом смешанном изначально эффекте, который оказал ацетилхолин и карбамоилхолин как на мускариновые, так и на никотиновые рецепторы. Для блокирования действия никотина использовался d-тубокурарин. Опять же в не очень высоких концентрациях, чтобы как бы исключительно блокировать никотиновые рецепторы. Еще остановлюсь тоже, когда повышали уровень эндогенного ацетилхолина в системе, то опять же вот этот вот эффект блокировался d-тубокурарином, что говорило о все-таки основном вкладе никотиновых ацетилхолиновых рецепторов.

**Председатель:** У вас все, да? Татьяна Владимировна.

**Овчинникова Татьяна Владимировна, д.х.н., член совета:** Спасибо большое, Ирина Валерьевна. Замечательная работа. Вопрос о практическом применении. Ну вот в частности, по аземиопсину вы проводили доклинические испытания. В двух словах обобщите, каковы перспективы по сравнению с широко используемым миорелаксантом бромидом рукурония. То есть нам же важно не просто доказать, что он может применяться, но что он в чем-то лучше. Вот поэтому подведите такую вот какую-то черту.

**Соискатель (Шелухина И.В.):** Спасибо за вопрос. Ну, пептидные миорелаксанты, естественно, у них есть минусы, есть плюсы. То есть безусловный плюс аземиопсина - это его полное выведение за сутки из организма без всяких побочных эффектов. То есть ожидается, ну, собственно говоря и показано, что в ряде тестов он фактически не аллергенен, не иммунотоксичен и т.д, и т.д. во многом за счет его очень быстрого и полного элиминирования в организме. То есть это вот один из таких, ну можно сказать, основных преимуществ аземиопсина. То, что он по своим, соответственно, токсичности, широте терапевтического окна, эффективности не уступает низкомолекулярным веществам, это было тоже также показано в работе. Ну, вот, пожалуй, что именно его как

бы большая природность что ли, и соответственно, полное расщепление – это вот такие основные его преимущества.

**Председатель:** Есть ли еще вопросы? Если есть, то активней, пожалуйста, потому что тут не все видно. По-моему нет. В таком случае дальше у нас по процедуре, если это была бы кандидатская диссертация, то я должен был бы дать слово научному руководителю для характеристики диссертанта. Сейчас у нас такого статуса нет у докторских, поэтому, Виктор Ионович, если Вы хотите сказать о своем, о сегодняшней защите, у нас будет общая дискуссия. У нас нет слова научному консультанту, нет такого порядка. Да, вот я и попрошу это, хотел бы так договориться. И тогда давайте заслушаем замечания, отзывы, самые разного типа отзывы тут есть: организации, где выполнялась работа, ведущая организация, может быть, есть там еще на автореферат может быть.

**Ученый секретарь:** *(излагает заключение организации, где выполнялась диссертация)*

Так, ну, во-первых, заключение той организации, где выполнялась работа – это наш институт. Название диссертации, отдел молекулярной нейроиммунной сигнализации ИБХ РАН, где выполнялась. Биографические данные, которые вначале были оглашены у нас из личного дела. Научный консультант: Цетлин Виктор Ионович. Далее диссертационная работа, тема диссертационной работы утверждена ученым советом 16 марта 2016 года, ну и далее заключение. Заключение полностью положительное. Ну, некоторые вещи вот я отсюда зачитаю, что с использованием разработанных методик, автором определены общие и различные черты механизма взаимодействия альфа-нейротоксинов и родственных трехпетельных белков с рядом Cys-петельных рецепторов и их моделями. Спектр разработанных методов и имеющихся лигандов позволил перейти на следующий уровень исследования физиологической и патофизиологической роли nAChR (никотиновых рецепторов) в организме. Впервые продемонстрирован проноцицептивный эффект активации. В общем-то, что мы сегодня, вот сейчас слышали, фактически здесь изложено достаточно подробно в заключении то, что сделано. Работа выполнена на высоком экспериментальном, методологическом уровне. Выводы конкретны, полностью отражают результаты. Экспериментальные результаты были получены лично автором, либо под его непосредственным руководством, за исключением следующих совместных работ. Далее перечисляются некоторые совместные работы с университетом Вуллонгонг австралийским, итальянским, Федеральный университет город Казань, Финляндия и т.д. То есть, я так понимаю, что здесь методы использовались те, которые доступны в этих университетах. Достоверность полученных результатов и обоснованность сделанных

выводов сомнений не вызывают. Основные результаты опубликованы в 23 статьях в ведущих зарубежных и отечественных рецензируемых научных журналах, включены в три российских и международных патента, изложены в монографии. Ну и, соответственно, соблюдены требования установленные пунктом 14, это об отсутствии заимствования без ссылок на источники, авторов. И соответствует положению о присуждении ученых степеней. Далее тайное голосование, присутствовало 44 человека на этом семинаре, где представлялись в институте результаты диссертации. За 44, против нет, воздержавшихся нет. Подписано председателем семинара Вадимом Тихоновичем Ивановым и заместителем директора Ямпольским Ильей Викторовичем. Утверждено директором нашего института Александром Габировичем Габировым. Это заключение организации.

*(Излагает отзыв ведущей организации. Отзыв положительный. Отзыв прилагается)*

Далее у нас идет отзыв ведущей организации. Это федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики имени Эмануэля Российской академии наук. Отзыв опять же полностью положительный. Традиционно начинается вопросами об актуальности, ну, и пишется буквально следующее: «В настоящее время вопросы нейрохимии и нейробиологии приобрели особую актуальность в связи с повышенным интересом мирового научного сообщества к исследованию когнитивных функций человека». Ну и далее конкретизируется вопрос, касающийся никотиновых ацетилхолиновых рецепторов. И подчеркивается, что детализация механизмов функционирования Cys-петельных рецепторов и характерных для них лиганд-рецепторных взаимодействий приобретает принципиальное значение как для фундаментальных исследований, так и для выполнения практических задач. Ну и это определяет актуальность. В качестве цели настоящего исследования была анонсирована характеристика новых аспектов функциональной активности никотиновых и родственных рецепторов нейромедиаторов в процессах нейропластичности, ноцицепции и воспаления, а также деталей молекулярных механизмов узнавания ими лигандов различной природы. Работа построена по классической схеме. Ссылок 730 наименований. Диссертационная работа изложена на 244 страницах машинописного текста и включает 55 рисунков и 11 таблиц. Фундаментальная значимость работы неоспорима, т.к. были получены новые знания о холинергической регуляции процессов ноцицепции и процессов нейропластичности мозга в норме и при патологии. Также была получена новая информация о селективности, аффинности и механизме связывания трехпетельных белковых и низкомолекулярных кураре-подобных ингибиторов Cys-петельных

рецепторов. Ну, далее подробно описывается схема диссертации, что вот раздел результаты и рассуждения – это 8 основных глав. Далее приводится, подробно излагаются достижения этой работы и вот. Однако диссертационная работа не ограничивается констатацией того факта, она предоставляет новые инструменты для модулирующих воздействий на этот самый никотиновый рецептор. С фармакологической точки зрения открытые в работе низкомолекулярные антагонисты и «молчащие» агонисты рецепторов никотиновых имеют несомненный потенциал как прототипы миорелаксирующих и противовоспалительных лекарственных средств, соответственно. Это становится еще более очевидным при прочтении завершающей главы Результаты и обсуждения, где описаны успешно проведенные доклинические испытания нового недеполяризующего миорелаксанта пептидной природы, который может быть рекомендован для дальнейших клинических испытаний.

Далее недостатки. Или скорее так: ряд замечаний и вопросы. Значит первое. Одним из прикладных результатов диссертационного исследования является разработка варианта кальциевого имиджинга с одноволновым флуоресцентным белковым сенсором для скрининга взаимодействий никотинового рецептора с лигандами. Вероятно, разработанный метод мог бы стать еще более простым и быстрым при получении стабильной клеточной линии, экспрессирующей кальциевый сенсор и соответствующий подтип никотинового рецептора. Проводились ли в рамках диссертационной работы попытки выведения подобной культуры клеток?

Второе. В разделе диссертации «Функциональная активность никотинового рецептора в организме. Ноцицепция» выявлено несколько аспектов взаимного влияния функциональной активности рецептора и нейропептида CGRP при ноцицепции, рецепции болевых стимулов. Так, в условиях повышенного содержания CGRP в оболочках головного мозга эндогенный ацетилхолин усиливал болевую (ноцицептивную) сигнализацию. Также была обнаружена предпочтительная функциональная экспрессия  $\alpha 7$  рецептора вот этими нейронами ноцицептивными, а затем проанализировано влияние агонистов и антагонистов рецептора на выброс CGRP этими нейронами как в первичной культуре, так и в *ex vivo* препарате чувствительных ганглиев. Однако в тексте диссертации не обсуждается известное прямое воздействие нейропептида CGRP на никотиновый рецептор. Как согласуются полученные данные с этим известным эффектом CGRP?

Третье. В диссертационной работе обнаружено, что активация парасимпатической холинергической нервной системы в оболочках головного мозга выражается в усилении

частоты болевых сигналов, воспринимаемых тройничным нервом. Установлена вовлеченность никотиновых и мускариновых рецепторов, расположенных на ноцицептивных нервных и иммунных клетках. На основании полученных данных сделан вывод о важности холинергической нервной передачи в патогенезе мигрени. Хотя довольно подробно изучен нейрхимический профиль экспрессии  $\alpha 7$  рецепторов, ноцицептивными нейронами, однако не проведено определения подтипов никотиновых рецепторов и м-рецепторов, вовлеченных в наблюдаемый проноцицептивный эффект холинергических агонистов в оболочках головного мозга. Позволяют ли полученные результаты в совокупности с литературными данными выявить наиболее важные для этого процесса подтипы вот этих рецепторов?

В ходе проведения диссертационной работы было установлено, что наиболее выраженное ингибиторное действие химически синтезированный трехпетельный белок человека SLURP-1 оказывает на гетеромерный рецептор состава  $\alpha 3\beta 4$ , но не на другой широко распространенный подтип  $\alpha 4\beta 2$ . Однако в тексте диссертации не обсуждается функциональное значение такого дифференцированного ингибиторного действия SLURP-1. Также остается неясным, позволяют ли полученные результаты судить о молекулярном механизме этого взаимодействия. Дополнительно возникает вопрос о функциональном значении выявленного негативного модулирующего действия SLURP-1 на  $\alpha 9\alpha 10$  никотиновый рецептор, что в недостаточной мере обсуждено в тексте диссертации.

Пятое. Проводились ли в рамках представленной работы попытки закристаллизовать комплекс никотинового ацетилхолинового рецептора или других рецепторов с какими-то из обнаруженных лигандов?

На этом недостатки кончаются. Значит можно сделать вывод, что диссертация представляет собой законченную работу, получены новые результаты, фундаментальные результаты можно рекомендовать для использования в научных исследованиях. Целая серия учреждений приводится. Важно, что новые фармакологически-перспективные агонисты и антагонисты рецепторов никотиновых можно рекомендовать в качестве исходной субстанции для получения лекарственных средств и проведения соответствующих доклинических и клинических испытаний их эффективности и безопасности. И дальше перечисляются организации, куда это рекомендуется. Выводы абсолютно доказаны. Автореферат соответствует, и, соответственно, диссертация сама соответствует положениям о присуждении степеней, а сам диссертант несомненно заслуживает присвоения искомой степени доктора химических наук по специальности

02.00.10 – «биоорганическая химия». И соответственно, он одобрен на семинаре лаборатории процессов фотосенсибилизации Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук. Подписано доктором химических наук, профессором, заведующим лаборатории фотосенсибилизации этого института, Владимиром Александровичем Кузьминым. И утвержден отзыв ведущей организации директором этого института, доктором химических наук, профессором, Курочкиным Ильей Николаевичем. Это вот ведущая организация.

**Председатель:** Там были вопросы. На них положено ответить, прошу.

**Соискатель (Шелухина И.В.):** Можно единственное уточнение. Т.е. они как бы дублируются, соответственно, вопросы, которые задают оппоненты, т.е. получается, что два раза отвечать на вопросы или какой порядок?

**Председатель:** Когда дело дойдет до оппонентов, вы скажете, что уже ответили на вопрос.

**Соискатель (Шелухина И.В.):** Так, секунду, так. Давайте тогда с вопросов начнем. По поводу разработки варианта кальциевого имиджинга с одноволновым флуоресцентным сенсором. Вопрос был по поводу того, почему мы использовали именно временную трансфекцию и не пытались ли мы использовать выведение стабильной клеточной линии. Дело в том, что такие работы проводились по выведению стабильной клеточной линии, но, к сожалению, для  $\alpha 7$  рецептора необходимо наличие довольно большого числа шаперонов и когда пытались мы вывести клеточную линию и с рецептором, и с шаперонами, в итоге получалось выведение, но с довольно низкой экспрессией рецепторов. Поэтому в итоге остановились на высокоэффективной временной экспрессии. Вопрос по поводу изучения, как согласуются данные о взаимном влиянии нейропептида CGRP и никотиновых рецепторов с известным эффектом CGRP ингибиторным на эти рецепторы. Дело в том, что действительно известен кратковременный, речь идет о миллисекундах, эффект CGRP на нейрональные никотиновые рецепторы. Он ингибиторный, полностью обратимый. Однако в нашей работе мы исследовали очень длительные эффекты CGRP на препарат. Это была двухчасовая преинкубация и, конечно, для таких временных рамок каких-то прямых исследований связывания CGRP с никотиновыми рецепторами, таких данных нет. Однако, что можно как бы добавить, что уже добавление CGRP буквально на 1 минуту вызывало значительное повышение внутриклеточной концентрации ионов кальция, что может приводить к

фосфорилированию никотиновых рецепторов, как показано для мышечного никотинового рецептора и, соответственно, что приводит к десенситизации рецепторов. То есть да, действительно даже при длительных эффектах может оказываться прямое воздействие CGRP на никотиновые рецепторы с длительными какими-то последствиями. Но таких длительных пока эффектов никто не изучал.

Вопрос касается определения подтипов никотиновых и мускариновых рецепторов, вовлеченных в наблюдаемый проноцицептивный эффект холинергических агонистов в оболочках головного мозга. Наши данные в совокупности с данными литературы свидетельствуют, что наиболее вероятен вклад как  $\alpha 7$  гомопентамерного никотинового рецептора, так и гетеропентамерных  $\alpha 3\beta 4$  и  $\alpha 6\beta 4$ . А среди мускариновых наиболее вероятным кандидатом является подтип M3, который расположен на ноцицептивных нейронах.

Следующий вопрос по поводу избирательного ингибирования белком SLURP-1 гетеромерных рецепторов состава  $\alpha 3\beta 4$  и чем может объясняться, как бы физиологически, эта особенность. Дело в том, что если  $\alpha 4\beta 2$  рецептор наиболее распространен в головном мозге, то рецепторы состава  $\alpha 3\beta 4$  являются наиболее широко распространенными на периферии: в периферических нейронах, в иммунных клетках. Так как достаточно хорошо изучено периферическое действие SLURP-1, то представляется вполне логичным его большая аффинность к периферически распространённому подтипу никотиновых рецепторов.

Вопрос по поводу кристаллизации комплекса ацетилхолинового рецептора с какими-либо обнаруженными лигандами. Проводились несколько попыток в отношении как раз белка SLURP-1, но все они остановились на том или ином этапе из-за недостаточно высокоаффинного лиганд-рецепторного взаимодействия.

Так, дальше вопрос по поводу взаимосвязи между удельной кальциевой проницаемостью разных никотиновых рецепторов и наблюдаемыми кальциевыми сигналами. Безусловно, кальциевые сигналы варьируют, что можно вот видеть здесь для гетеромерных и гомомерных рецепторов, к примеру. Но однако нас на самом деле интересовал вот этот вот всплеск самый первоначальный, потому что дальнейший кальциевый сигнал вовлекает множество механизмов как внутриклеточных, так и вход, если про гетеромерные рецепторы речь идет, то вход через потенциал-зависимые кальциевые каналы. Поэтому нас интересовала именно амплитуда вот этого вот первоначального резкого повышения концентрации ионов кальция, которая напрямую отражает активацию

именно никотиновых рецепторов. Это было подтверждено при сравнении данных, полученных с помощью кальциевого имиджинга (вот полученные кривые) и данных электрофизиологических измерений. То есть мы убедились в том, что действительно мы имеем право вот эту вот амплитуду считать отражением именно активации никотиновых рецепторов, а не каких-то дополнительных уже вовлекаемых последующих кальциевых сигналов.

Как раз я немного начала отвечать еще на последующие два вопроса. По поводу можно ли оценить вход кальция, ионов кальция, через потенциал-зависимые кальциевые каналы при активации никотиновых рецепторов и какой вклад вносит эндоплазматический ретикулум и митохондрии. Дело в том, что проводилось довольно много исследований на данную тему. Применялись как методы кальциевого имиджинга, электрофизиологии, целый набор фармакологических агентов. Это естественно не только наши исследования, это исследования многих лабораторий. В целом, исследователи пришли к выводу, что выбор внутриклеточного сигнального пути зависит от субъединичного состава активируемого никотинового рецептора. Так, активация гетеромерных никотиновых рецепторов приводит к деполяризации мембраны и последующей сигнализации посредством открытия потенциал-зависимых кальциевых каналов. Напротив, наиболее проницаемые для ионов кальция гомопентамерные  $\alpha 7$  никотиновые рецепторы в основном провоцируют выход ионов кальция из рианодин-зависимых внутриклеточных депо. Как раз здесь уже прослеживается различность функциональной роли гетеромерных и гомопентамерных рецепторов, т.е. гетеромерные чаще участвуют в нервной передаче, гомопентамерные чаще участвуют в регуляторных механизмах в клетке.

Следующий вопрос по поводу применения сайт-направленного мутагенеза к ионному фильтру.

**Ученый секретарь:** А это разве. Вы уже отвечаете на вопросы оппонента.

**Соискатель (Шелухина И.В.):** Сейчас. А, да, извиняюсь.

**Председатель:** Вы уже забежали в отзывы оппонентов. Я так понял, что вы уже даже с лихвой ответили на те замечания, которые были в отзыве ведущей организации. Правильно я понимаю?

**Соискатель (Шелухина И.В.):** Да, еще на пару вопросов забежала, к сожалению, Всеволода Григорьевича.

**Председатель:** Да, это было необязательно.

**Соискатель (Шелухина И.В.):** Да.

**Председатель:** Спасибо, двигаемся дальше. Есть ли отзывы на автореферат?

**Ученый секретарь:** *(Оглашает отзывы на автореферат. Оба отзыва положительные.*

*Отзывы прилагаются)* Да, в диссертационный совет поступили два отзыва на автореферат. Оба положительные. Ну, там подчеркивается, что отличает работу высокий методологический уровень. Написана хорошим языком. Автореферат дает представление о целостности и т.д. Я просто зачитаю, значит, подписано заведующей кафедры хирургической стоматологии института им. Сеченова Минздрава России, доктор медицинский наук, профессор Светлана Викторовна Тарасенко. Полностью положительный отзыв и тоже полностью положительный отзыв. Ну, подчёркивается обширность, самодостаточность работы и несмотря на самодостаточность, диссертант не остановился на них, а продвинулся до стадии доклинических испытаний, ну и так далее. В общем, такой хвалебный, хороший отзыв. И кстати, вот тут подчеркивается, что препарата на основе, вот доклинические испытания, синтетического пептида аземиопсина показав, что в терапевтических дозах он является эффективным и безопасным миорелаксантом с более высокой селективностью и специфической активностью, чем применяемый в клинике бромид рокурония. Значит, подписано главным научным сотрудником лаборатории фундаментальных и прикладных проблем боли, НИИ общей патологии и патофизиологии, доктор биологических наук А.М. Сурин. Без замечаний.

**Председатель:** И там нет замечаний, поэтому можно двигаться дальше, правильно я понимаю? Дальше у нас официальные оппоненты. Профессор Пинелис Всеволод Григорьевич из Центра здоровья детей, я так понимаю.

**Пинелис Всеволод Григорьевич, профессор, д.м.н., официальный оппонент:** *(Излагает отзыв. Отзыв положительный. Отзыв прилагается)* Мы живем в эпоху коронавируса. Он распространяется. Ну, я очень признателен ученому совету, дирекции института за возможность выступить на столь почетном заседании и для меня это очень почетно, потому что я очень уважаю этот институт. Ну, естественно, свой отзыв я начинаю с вопросов актуальности, здесь уже было. Ну, нужно сказать, что диссертация эта действительно очень актуальна по нескольким соображениям. Ну, первое, учитывая те события, которые произошли в последние месяц-два, эта тема очень модная. Во-вторых, проблема ацетилхолиновых рецепторов существует уже более 100 лет, но молекулярные механизмы до сих пор еще окончательно не установлены и поэтому эта диссертация, ну, это большой шаг вперед и плюс, т.к. целый ряд новых механизмов был установлен в

результате выполнения этой работы. Следующие вещи, которые очень важны, какова роль никотиновых ацетилхолиновых рецепторов и, в частности, именно трехпетельных рецепторов не просто в норме, но и при патологии. Это связанное и с болезнью Альцгеймера, и с болезнью Паркинсона и очень модные распространенные, к сожалению, не до конца выясненные – это мигрень, которая поражает очень и очень многих людей. Могу сказать это как врач. Поэтому проведение этих исследований также является очень актуальным. И поиск препаратов, которые направлены на борьбу с мигренью также очень-очень актуальна. В диссертации были получены ряд убедительных данных, по крайней мере на экспериментальном уровне, что создает базу, необходимую для последующего проведения уже клинических исследований. Ну, естественно, в задачу оппонентов входит это установление научной новизны, научной и практической новизны полученных результатов. Ну, я их разбил на целый ряд пунктов. Их много, восемь. Ну, остановлюсь на некоторых, потому что в докладе диссертанта было сказано целый ряд и приведены данные и подчеркивалось, что эти данные были получены впервые, поэтому повторять не буду это. В моем отзыве это все данные есть. Я бы хотел остановиться, ну, это вопрос доклинических испытаний. Это очень важный вопрос. И эти доклинические испытания показали, что в терапевтических дозах этот препарат является эффективным и безопасным миорелаксантом и с более высокой селективностью и специфической активностью, и позволит провести в дальнейшем, уже наметить и клинические испытания, что очень-очень важно. Я надеюсь, диссертант дальше продолжит работу в этом направлении. Ну, практическая значимость работы состоит в усовершенствовании методологической базы, нейрохимической, физиологической. Выяснение аспектов роли никотиновых ацетилхолиновых и родственных рецепторов нейромедиаторов, особенно взаимодействие для меня очень-очень важное: это взаимодействие между ацетилхолиновыми рецепторами и рецепторами гамма-аминомасляной кислоты. И наконец, очень важное практическое значение этой диссертации, что опубликовано 23 статьи в очень высокорейтинговых журналах. Не всякая диссертация заканчивается, так сказать, таким богатым уловом в плане опубликования результатов. Ну, общая характеристика работы – это, что она построена по традиционной схеме и т.д. Здесь все это было. Организация исследования была соответствующая, очень четко организовано это исследование, одно вытекает из другого и поэтому легко читается и сделаны соответствующие выводы. Ну, статистика, обработка данных самыми современными статистическими методами с использованием ANOVA и других статистических

корреляционных методов корреляционного анализа. Значит, ну, на результатах я не буду останавливаться, диссертант подробно в течение 45 минут изложила, так сказать, и мы все с удовольствием это послушали. Ну, значит, конечно, нужно еще раз подчеркнуть вот этот мощный методический уровень этой диссертации, комплексный подход – это радиолигандное исследование, флуоресцентное исследование, это проведение конкурентного анализа, использование различных ингибиторов, активаторов и т.д. позволило получить, ну, хорошее, полное представление о физиологии, патологии никотиновых ацетилхолиновых рецепторов. Ну, естественно, принципиальных замечаний нет. Да, ну, нужно отметить, что все положения, о которых говорила автор диссертации, они достаточно хорошо обеспечивают, проведение этих исследований позволяет сделать правильные адекватные выводы. Ну, принципиальных замечаний у меня нет, ну единственное, о чем хотел бы, но целый ряд вопросов у меня есть.

Ну, первое, что меня удивило – отсутствие в автореферате раздела «материалы и методы». Ну, я впервые так встретился с таким авторефератом. Ну, рецензенту, оппоненту пришлось полностью влезть в диссертацию и прочитать ее соответствующим образом. Я доволен, это еще раз обогатило мои знания. Но тем не менее не все могут сразу прочитать диссертацию, в автореферате тоже должен быть этот как-то раздел указан.

Дальше, так как я почти 45 лет занимаюсь внутриклеточным кальцием и именно в нейронах, у меня, естественно, масса вопросов, связанных с кальциевым имиджингом. Ну, оригинальный подход, это известно. Разработка вот этих плазмид, которые позволяют выявить кальциевый сенсор и определить участие кальция, без которых ни один физиологический процесс в любой клетке, эукариотической и неэукариотической, не происходит. Ну, вопросы эти у меня следующие. Ну, автор, значит, 17 различных соединений никотиновых ацетилхолиновых способны участвовать в формировании рецептора и ответа. Поэтому вот эта гетерогенность кальциевого ответа она требует специального объяснения, раз.

Мне кажется очень важным следующий вопрос: можно ли, используя кальциевый имиджинг, оценить вход кальция через потенциал-зависимые кальциевые каналы и зависит ли этот вход от степени деполяризации плазматической мембраны? Потому что мы знаем, что когда открываются потенциал-зависимые каналы, обязательно происходит деполяризация плазматической мембраны. К сожалению, я в диссертации не нашел ответа, хотелось бы услышать.

Теперь значит, ну, диссертант пыталась уже отметить, в какой степени эндоплазматический ретикулум и митохондрии участвуют в формировании кальциевого сигнала, ну, для этого есть масса инструментов, которые позволяют, так сказать, оценить этот вклад. К сожалению, в диссертации я не нашел. Ну, эндоплазматический ретикулум – это таких ингибиторов – таксикаргина, циклопиазоновой кислоты. Ну, митохондрии – это известные, это протонофоры, это ингибиторы отдельных звеньев дыхательной цепочки и т.д. Т.е. это бы обогатило бы диссертацию и мы бы знали бы в каком плане, потому что литературы практически по этому вопросу очень и очень мало.

Следующий вопрос, который так сказать, меня заинтересовал, ну, это в плане, перспективно ли применение сайт-направленного мутагенеза по отношению к ионному фильтру канала  $\alpha 7$  никотиновых ацетилхолиновых для существенного снижения доли кальция в трансмембранном токе? Потому что фактически, проводя электрофизиологические измерения, измерялся кальциевых ток. Вот и была ли корреляция между имиджингом и электрофизиологическими исследованиями? К сожалению, тоже было очень трудно уловить.

Ну, мы знаем, что у нас есть и ионотропные рецепторы, и metabotropic рецепторы. В какой пропорции или как участие metabotropic рецепторов, где кальциевый сигнал очень маленький и он очень быстро проходит, мгновенно, принимали ли участие metabotropic рецепторы?

Следующее, значит, ну, вот что меня заинтересовало. Нейтрофилы, казалось бы, частицы, ну, клетка крови, которая, так сказать, высоко организована и прочее. Но тем не менее обнаружена вот эта гетерогенность сигнала в нейтрофилах. Или это связано с незрелостью этих клеток? Потому что это важно для клиники, где связь с иммунологическими аспектами и т.д., они естественно требуют ответов на этот вопрос.

И значит последний вопрос. Нет, это еще не последний. Это физиологическое значение сродства высокоэффективных модуляторов с низкоэффективными и так далее. Также вопрос, который требует разъяснения и сопоставления с теми результатами, которые были получены с помощью кальциевого имиджинга.

Ну, нейрогенез в диссертации представлен широко и полно и автор об этом говорила, но возникает вопрос. Мы знаем, что во взрослом мозге есть стволовые клетки, которые так сказать. И вот возникает вопрос. Какова роль стволовых клеток в проблеме нейрогенеза у взрослого организма? Потому что это очень важно. Стволовые клетки являются плюрипотентными и их свойство – стремление туда, где есть поражение. А мы имеем

поражение при целом ряде заболеваний. Поэтому этот вопрос тоже требует определенного ответа. Но хотя вопросов много, они в основном направлены на то, чтобы удовлетворить общее наше стремление как можно больше познать в той или иной области. Но для меня это важно, именно кальциевый имиджинг. Ну, вопросов много, они подчеркивают сложность этой работы и высокую ее значимость. Ну, и все это, все эти вопросы не умаляют достижений автора. И автор, сама диссертация и автор соответствуют всем правилам ВАКа о докторской диссертации. И автор, естественно, заслуживает присвоения искомой степени. Вот все, что я хотел сказать в своем отзыве.

**Председатель:** Вывод понятен, спасибо. Тем не менее, были у вас вопросы или замечания. Я надеюсь, диссертант ответит на них.

**Соискатель (Шелухина И.В.):** Большое спасибо Всеволоду Григорьевичу за чудесный отзыв и целый ряд интересных вопросов. Ну, так как я уже немножко забежала вперед и более того, Всеволод Григорьевич мне помог, уже рассказывая про то, как можно оценить вклад внутриклеточной активации эндоплазматического ретикулума и митохондрий, я немного продолжу уже дальше. Вопрос по поводу перспективно ли применение сайт-направленного мутагенеза по отношению к ионному фильтру канала  $\alpha 7$  никотинового рецептора для существенного снижения доли кальция в трансмембранном токе. Действительно такие рецепторы уже существуют и применяются. Дело в том, что для гомопентамерного  $\alpha 7$  рецептора сигнализация посредством входа кальция считается даже более важной, чем собственно говоря, вход ионов натрия и какие-то, так скажем, обычные ионотропные эффекты, которые мы ожидаем от никотиновых рецепторов. Особенно если учитывать, насколько распространены  $\alpha 7$  никотиновые рецепторы в невозбудимых клетках. С появлением мутированных форм рецепторов, когда мы можем отсечь фактически проницаемость для ионов кальция, у нас появляется в руках дополнительный инструмент, а именно разделение для выяснения все-таки насколько важна кальциевая сигнализация в том или ином процессе, запускаемом  $\alpha 7$  рецептором. Вопрос по поводу метаботропных и ионотропных эффектов агонистов никотиновых рецепторов и возможны ли те и другие. Дело в том, что действительно в последние годы укрепилось мнение, что в невозбудимых клетках особенно чистый ионотропный эффект никотиновых рецепторов может подменяться или даже полностью заменяться метаботропным эффектом. Данные исследования в настоящее время чрезвычайно популярны. Там целый ряд методик применяются: и мутагенез, и протеомика, много всего, но до настоящего момента пока еще целостной картины не сформировалось. Однако

действительно можно сказать, что, например, в нейтрофилах мы ожидаем, что многие кальциевые эффекты, которые мы наблюдаем, сопряжены не только с ионотропным эффектом  $\alpha 7$  рецептора или других никотиновых рецепторов, но могут вовлекаться и их метаботропные эффекты, метаботропная сигнализация, запускаемая активацией никотиновых рецепторов.

Вопрос по поводу гетерогенности кальциевого сигнала в нейтрофилах и вопрос, почему отвечает только 30% клеток, выявлена ли связь степени воспаления с, соответственно, кальциевым сигналом? Вернусь к данному слайду. Дело в том, что немного остановлюсь на методических аспектах. Для развития воспаления его индуцировали *in vivo* по стандартной методике. Мышам внутрибрюшинно вводили суспензию зимозана, а через 5 часов промывали брюшную полость и выделяли перитонеальные нейтрофилы из очага воспаления. То есть таким образом, получалось, что степень воспаления как-то, ну, повлиять на степень воспаления как-то дополнительно мы не можем, т.е. воспаление было именно *in vivo* продуцировано. И все вот эти вот тесты, как кальциевого имиджинга, хемилюминесценции, клеточной адгезии и т.д. были проведены именно с использованием этих клеток. Когда стали проводить кальциевый имиджинг, то выяснилось, что нейтрофилы весьма гетерогенны как по уровню ионов кальция, внутриклеточной концентрации ионов кальция, так и по спонтанным осцилляциям, которые были видны в нейтрофилах. Было обнаружено, что никотин вызывал ответы именно в тех клетках, для которых не было заметно спонтанных осцилляций. И такие клетки составляли около трети всей гетерогенной популяции нейтрофилов. Логично ожидать, что в такой момент, как острая фаза воспаления, естественно, нейтрофилы находятся в самых разнообразных функциональных состояниях, для которых показана прямая связь с внутриклеточным содержанием кальция, осцилляциями кальция, внутриклеточной кальциевой сигнализацией, поэтому совершенно логичным кажется их такая сильная гетерогенность. Потому как даже в пересеваемых, собственно говоря, линиях заметны существенные различия во внутриклеточной кальциевой сигнализации, если вот даже мы берем наш разработанный метод кальциевого имиджинга при временной трансфекции и временной, соответственно, экспрессии наших рецепторов.

Следующий вопрос по поводу сродства ряда  $\alpha$ -нейротоксинов к сайту связывания ГАМКА-рецепторов. Каково физиологическое значение этого сродства? Оно более низкоаффинно, чем к их основной мишени действия – никотиновым ацетилхолиновым рецепторам. Дело в том, что действие яда змей отличается избыточной надежностью за счет действия на целый

ряд мишеней в организме. Например, в яде кобр основной нейротоксин – это  $\alpha$ -кобротоксин, он быстро блокирует, соответственно, мышечные рецепторы, приводя к остановке дыхания, парализуя жертву и приводя к остановке дыхания. Однако помимо него в яде представлен целый коктейль фосфолипаз, протеаз, цитотоксинов, минорных нейротоксинов и т.д., которые обладают протеолитическим, гемотоксическим, цитотоксическим, нервно-блокирующим действием. Представляется, что действие, обнаруженное нейротоксинов на дополнительную мишень, ГАМКА-рецепторы, возможно, отражает еще один пример избыточности в действии компонентов яда.

Вопрос по поводу нейрогенеза. Очень много да, 8 вопросов. Какова роль в процессе нейрогенеза стволовых клеток, имеющих в мозгу взрослых животных? При нейрогенезе, собственно, новообразованные нейроны, вот эти вот незрелые сначала гранулярные клетки, потом уже которые становятся зрелыми гранулярными клетками, они изначально образуются из нервных стволовых клеток, расположенных как раз в субгранулярной зоне зубчатой фации гиппокампа. Дифференцировка новообразованных нейронов из этих стволовых клеток – процесс очень многостадийный. Изначально данные стволовые клетки они больше похожи на астроциты по своей морфологии и даже по спектру экспрессируемых белковых маркеров. Сначала эти субгранулярные клетки, они как бы такими островками там расположены, и сначала они как бы мигрируют в горизонтальной такой плоскости, а затем уже, по мере их дифференцировки, когда уже начинается рост дендритов, формирование каких-то уже более типичных биохимических маркеров нейронов, они постепенно мигрируют уже глубже в гранулярный слой и уже заканчивается их степень дифференцировки зрелыми гранулярными клетками. Дело в том, что почему я в своем докладе сразу не остановилась на стволовых клетках, в нашей работе нас интересовали все-таки уже довольно зрелые новообразованные нейроны, на довольно поздних этапах дифференцировки, когда у них уже сформированы дендриты и у них уже формируется потенциал действия, т.е. нас уже такие почти настоящие нейроны интересовали. Но изначально действительно эти нейроны образуются из стволовых клеток в субгранулярной зоне зубчатой фации гиппокампа. Спасибо, это все вопросы.

**Председатель:** Двигаемся дальше. Далее выступает Татьяна Александровна Гудашева, член-корреспондент, Институт фармакологии. Слушаем внимательно.

**Гудашева Татьяна Александровна, чл.-корр. РАН, д.б.н., официальный оппонент:** *(Излагает отзыв. Отзыв положительный. Отзыв прилагается)* Значит, ну, я хочу сразу сказать, что работа без сомнения очень серьезная, она как бы и широкая, и глубокая. И то,

что интерес к этой тематике предсказуемо высок, ну это лежит, это понятно, потому что рецепция нейромедиаторов лежит в основе нервной передачи, которая определяет физиологические функции нервной системы. Актуальность этой работы она тоже понятна. Я вчера посмотрела по PubMed, сколько статей по никотиновым рецепторам с 45-го года прошлого века. Это около 8000. А за последние 10 лет это 4000. И за последние 5 лет это 3000. Представляете, как растет. И этот рост вот этих публикаций, конечно, связан, я думаю, в первую очередь с тем, что открыты модуляторные механизмы действия, положительные модуляторные лиганды, к которым интерес в фармацевтическом плане очень высок. И вот публикации за последние 5 лет там примерно 50 на 50: 50% это фармакологические эффекты и 50% это фундаментальные исследования. Интересно отметить, что примерно около 1% за последние 5 лет - это публикации Института биоорганической химии. Вот так что все это говорит о том, что тема весьма актуальная и то, что в принципе эта работа и фундаментальная, и имеет прикладные аспекты, тоже это мы слышали из доклада. Ну, фундаментальность – это яркий пример, что проведены были определенные доклинические исследования миорелаксанта на основе пептида аземиопсина, по-моему, 21-членный, который открыт сотрудниками Института биоорганической химии. И на него, на эту работу очень много ссылаются, я посмотрела тоже по PubMed. Работа является оригинальной, содержательной в научном оснащении. Новизна подчеркивается, конечно, опять вот этими публикациями, 23 публикации. Но это не просто 23 публикации, количество. Больше половины опубликовано в первом и втором квартале, как сейчас Минобрнауки очень любит хвастаться, если, в общем-то, кто-то публикуется в таких кварталах. Заявленная цель диссертационной работы состояла в выявлении и характеристике новых аспектов функциональной активности никотиновых рецепторов, а также их родственных, которые объединены в так называемые Цистеин-петельные рецепторы. Изучались процессы нейропластичности, боли и воспаления. Боль, воспаление – сейчас особенно большой интерес у фармацевтических компаний, вот именно патогенез этих функций закладывают цистеин-петельные рецепторы. Для достижения цели, которая была поставлена в этой работе, были, в общем-то, решены 7 исследовательских задач, которые, в общем-то, мы тоже все здесь слышали, как они решались. Интересно отметить, что вот каждое положение диссертационной работы диссертант доказывает, ну, иногда 4 и даже 5 разными методами и методиками. Обычно это 2-3 в наших случаях диссертационных работ, а здесь до 5. Это, конечно, очень серьезно. Хотелось бы отметить вот диссертационный обзор литературы, который

посвящен был Gys-петельным рецепторам. Он является универсальным и даже, я бы сказала, даже учебным. Тот, кто хочет заниматься рецепторными механизмами, этот обзор очень полезен. Значит, в нем и пространственное строение всех этих рецепторов проанализировано, функционирование этих рецепторов, вовлеченных в патогенез разных заболеваний и все возможные лиганды, которые известны на сегодняшний момент. Результаты, которые вынесены на защиту, они излагаются в 8 основных главах, и здесь я тоже хочу подчеркнуть, что вот собственные результаты они занимают примерно половину объема диссертации, в которой больше 200 страниц, а здесь это больше 100 страниц собственных результатов. Около 50, по-моему, литературный обзор, около 50 методы и вот собственные результаты около и даже более 100 страниц.

Особенности функционирования никотиновых ацетилхолиновых рецепторов в организме изучаются, мы знаем уже, с начала прошлого века. И, тем не менее вот автору удалось выявить целый ряд новых аспектов их физиологической и патофизиологической роли, при этом не только в нервной системе, но и в ряде других систем. Одним из весьма популярных в последний год направлений исследований в изучении никотиновых рецепторов и вовлеченности никотиновых рецепторов – это является обучение, когнитивные функции и, конечно, вовлеченность в нейродегенеративные заболевания. В рамках диссертационного исследования диссертанту впервые удалось обнаружить определенные функционально активные подтипы никотиновых рецепторов, которые ответственны за образование новых нервных клеток во взрослом мозге у грызунов. А также были интересны исследования, это которые показали вовлеченность в компенсаторные механизмы никотиновых рецепторов на моделях болезни Паркинсона. Это тоже, в общем-то, серьезные там получены результаты. Особое внимание на сегодняшний день уделяется вопросам болевой рецепции или так называемой ноцицепции. И большой раздел работы посвящен именно этой проблеме, в частности, участия изучаемых рецепторов в патогенезе мигрени. Вот тоже здесь было доложено достаточно хорошо, и я думаю, что вот это направление, оно должно развиваться дальше, потому что с мигренью кто сталкивался, знает, как это тяжело, а лекарственных препаратов, в принципе, до сих пор нет, но вот хотя используются серотонинергические препараты, но они все-таки малоэффективные.

Дальше в диссертационной работе при исследовании функциональной роли никотиновых рецепторов использован был очень широкий набор специфических низкомолекулярных и пептидно-белковых лигандов. И хотелось бы отметить, что диссертант очень тщательно

вот это все изучает, подтверждает, несколько раз перепроверяет для того, что насколько можно тем или другим лигандом пользоваться. В целом работа представляет собой, конечно, еще раз подчеркну, серьезное как фундаментальное научное исследование, так вот и выход на практические вехи.

Обоснованность выводов диссертационной работы обеспечивается проверкой каждого из ее положений несколькими независимыми методами. Вот и есть некоторые замечания, которые, в общем-то, конечно, не умаляют абсолютно этот такой серьезный и большой труд. Первое замечание. Оно касается раздела работы по изучению регуляторной роли никотиновых рецепторов в функционировании нейтрофилов. Ну, здесь часть на это отвечали, но не совсем. Для индукции защитной реакции нейтрофилов использовался бактериальный трипептид – формил-метионил-лейцил-фенилаланин. В диссертационной работе был проведен ряд экспериментов по изучению влияния на этот процесс различных агонистов и антагонистов. Однако в работе не указан почему-то механизм действия этого трипептида и не обсуждается его возможное прямое связывание с никотиновым рецептором.

Второй вопрос или замечание. Значит, автору удалось открыть и охарактеризовать ряд новых специфических молчащих агонистов. Это один из самых, по-моему, значимых тоже фрагментов этой работы. Агонистов  $\alpha 7$  рецептора среди природных и синтетических соединений. Проведённая работа дала новую структурирующую информацию о фармакофоре  $\alpha 7$  рецептора. Автор подчеркивает фармакологическую перспективность этих соединений. Ну вот мне представляется, что если бы хотя бы проведены были тестирования биологической активности на общем организменном уровне, но это, как, наверное, человек, которых занимается сейчас фармакологией, это было бы очень здорово. Ну, это целое большое направление, поэтому, наверное, оно будет развиваться.

Третье замечание, вопрос. Вот чем можно объяснить резко отличающийся профиль активности производного хинолина под номером 7, который оказался агонистом, а соединения, которые близкие по структуре 11, 13 и 14, в диссертационной работе докладывались под этими номерами, они являются молчащими агонистами этого подтипа никотиновых рецепторов. Ну, как диссертант видит это, может ли нам объяснить.

Дальше два вопроса, замечания уже по доклиническим исследованиям. Ну, доклинические исследования, конечно, они достаточно неплохо были проведены, ну, это еще не окончательные доклинические для того, чтобы подавать в Фармкомитет и Минздрав, но тем не менее они достаточно серьезные. Субхроническая токсичность

лекарственного синтетического пептида аземиопсина определялась в течение 14 дней, а потом 14 дней перерыв. Ну, обычно это минимально, обычно это месяц занимает. Вот я хотела бы понять, почему именно выбран 14-дневный период и потом с отменой в 14 дней.

И следующий, последний вопрос. Значит, изучение фармакокинетики этого пептидного препарата в йодированной форме проводилось при его внутривенном и внутримышечном введении в дозах 0,25 и 0,5 мг/кг. Однако в то же время токсикологи показали, токсикологические исследования показали, что  $LD_{50}$  при этих введениях составляли 0,51 и 0,73. Как можно объяснить, что при этом не наблюдалась смертность животных при изучении фармакокинетических исследований или как этого можно было избежать.

Ну, и что еще можно, как правило требуется отметить, что автореферат полностью отражает основное содержание диссертации. Понятно, что там не хватило возможности вставить только свои личные результаты, потому что их очень много, поэтому методы, так я понимаю, что не хватило места. И результаты диссертации были представлены на многочисленных международных и российских симпозиумах. И вот эти 23 статьи, большая часть из которых в 1 и 2 квартале, они, в общем-то, это все говорит за то, что диссертация очень хорошая. И в заключении, что требуется сказать, что диссертация Шелухиной Ирины Валерьевны является законченным научным исследованием, соответствующим всем критериям, в том числе и пункту 9 Положения, так, как оно там, присуждении ученых степеней, то, что утверждено постановлением Правительства Российской Федерации. А сам диссертант, естественно, ну, без всяких сомнений заслуживает присвоения искомой степени доктора химических наук по специальности биоорганическая химия, с чем я, в общем-то, и поздравляю институт с такой большой работой и хорошей.

**Председатель:** Спасибо, вывод понятен. Тем не менее Ирина Валерьевна ответит на ваши замечания.

**Соискатель (Шелухина И.В.):** Большое спасибо Татьяне Александровне за такой чудесный отзыв и за эти замечания. Первое замечание касается механизма действия хемотактического трипептида формил-метионил-лейцил-фенилаланина на нейтрофилы и возможном прямом его связывании с никотиновыми рецепторами. При действии на нейтрофилы этот трипептид инициирует каскад сигнальных реакций, активацию уже связанных рецепторов и протеинкиназы C, повышение внутриклеточной концентрации

ионов кальция, что приводит к увеличению выработки активных форм кислорода нейтрофилами за счет усиленной работы NADPH-оксидазы. Каких-либо данных о возможном прямом связывании этого трипептида с никотиновыми рецепторами я в литературе не обнаружила. Мы напрямую не проверяли этого положения, но каких-либо, как сказать, указаний в ходе экспериментальных работ, мы тоже не заметили. То есть, допустим, были свои проблемы с выбором специфических антагонистов никотиновых рецепторов для изучения кальциевого имиджинга, теста хемилюминесценции, потому что сами вещества приводили к, ну, побочным эффектам в этих тестах, поэтому к выбору антагонистов подходили очень-очень так трепетно и долго перебирая. Но каких-либо вот как указаний на то, что трипептид как-то связывается с никотиновыми рецепторами в экспериментальной работе мы не заметили.

Следующий вопрос по поводу молчащих агонистов и, возможно, дополнительных исследований их биологической активности. Действительно эти молчащие агонисты обладают фармакологическим потенциалом, как противовоспалительные средства и, безусловно, у нас есть интерес к этим их свойствам. В данный момент проводятся исследования биологической активности именно как противовоспалительных средств, но в рамках диссертационной работы все-таки нельзя объять необъятное, поэтому пришлось как бы остановиться на изучении их свойств именно как агонистов никотиновых рецепторов без перехода на полномасштабные доклинические исследования. Ну, вот нам удалось все-таки доклинические исследования провести хотя бы для пептидного миорелаксанта.

Вопрос по поводу производного хинолина номер 7. Возвращаясь к структуре, дело в том, что антагонист – вот единственное соединение под номером 7, он оказался антагонистом  $\alpha 7$  никотинового рецептора, но на самом деле он к  $\alpha 7$  рецептору был весьма низкоаффинен, т.е. он все-таки предпочтительно связывался с рецептором состава  $\alpha 4\beta 2$ . И как раз предпочтительная аффинность всех этих обнаруженных агонистов к  $\alpha 7$  рецептору объяснялась наличием в их составе девятичленного гетероцикла, а для соединения номер 7 был восьмичленный гетероцикл. Именно поэтому наблюдалась его большая аффинность к гетеромерному подтипу рецептора. И на самом деле, да, мы его как бы считаем антагонистом, но есть такое подозрение, что, как я уже говорила, молчащие агонисты на самом деле сами по себе без позитивных аллостерических модуляторов десенситизируют рецептор, т.е. ну, фактически он становится неактивным. И, соответственно, если вот это вот соединение 7, так скажем, ему немножко не хватило

активности позитивного аллостерического модулятора, то он просто десенситизировал рецептор по большому счету. Наверное, мы даже на самом деле видели при первых опытах, когда еще не знали о молчащей природе вот этих агонистов, в самом начале работы мы видели, что периодически они именно работают как антагонисты. Потом мы уже научились, мы поняли, что позитивный аллостерический модулятор там в каких дозах, как преинкубировать и т.д. и т.п. Но вот с этими веществами, они такие немножко хитрые по своей фармакологии, поэтому нужно очень аккуратно к ним подходить, чтобы не получить, собственно говоря, десенситизацию рецептора вместо агонистических свойств.

Вопрос по поводу уже доклинических исследований и выбора периода исследования субхронической токсичности. При выборе временного интервала учитывалось два фактора. Во-первых, предполагаемое время применения этого вот пептидного миорелаксанта составляет, ну, часы, даже, скорее, минуты. И изучение фармакокинетики показало, что уже за сутки он выводится полностью из кровотока мышей. Таким образом, его последовательное введение в течение 14 дней полностью, в общем-то, охарактеризовало его отсутствие каких-либо признаков токсичности и каких-либо признаков накопления этого пептида, соответственно, у животных. Поэтому мы посчитали этого периода вполне достаточно для характеристики субхронической токсичности.

По поводу вопроса, как удалось избежать смертности при изучении фармакокинетики лекарственного средства и введении его в дозах 0,25 и 0,5 мг/кг. Дело в том, что при йодировании аземиопсина его аффинность к мышечному никотиновому рецептору несколько снижалась. Именно поэтому он в йодированной форме, которая применялась для фармакокинетики, не был столь токсичен как в натуральной форме. Спасибо.

**Председатель:** У нас запланировано выступление третьего оппонента, член-корреспондент Кочетков Сергей Николаевич, но он заболел, поэтому мы слушаем Владимира Александровича. В исполнении Владимира Александровича изложение того, что подготовил Сергей Николаевич.

**Ученый секретарь:** *(Излагает содержание отзыва официального оппонента академика РАН, д.х.н., Кочеткова С.Н.. Отзыв положительный. Отзыв прилагается)* Ну у меня в руках отзыв официального оппонента Сергея Николаевича Кочеткова. К сожалению, он действительно не может присутствовать здесь сегодня. Отзыв полностью положительный. Традиционным образом: актуальность, новизна, далее достаточно подробно излагаются фактически те достижения и достоинства диссертации, которые мы сегодня уже

неоднократно слышали, которые нам уже представлялись многократно. И я сразу, если вы позволите, перейду к недостаткам и к замечаниям. Значит, опять же ряд вопросов и замечаний приведены они далее. Первое. В диссертационной работе для  $\alpha$ -кобратоксина, классического конкурентного антагониста рецептора, не только обнаружена новая природная мишень действия – ГАМКА-рецепторы, но также показан нетипичный механизм связывания с этой новой мишенью. Связывание осуществляется по конкурентному механизму, а также присутствует и неконкурентная компонента. В случае неконкурентного механизма предполагается ли посадка токсина в какой-то отличный от ортостерического сайт связывания лигандов? Это первое.

Второе. Автор указывает, что при изучении эндогенной холинергической системы мозговых оболочек было обнаружено наличие ацетилхолин- и бутирилхолинэстераз в нервных волокнах твердой мозговой оболочки, окружающих кровеносные сосуды, а также достаточно редко в диффузно-расположенных аксонах. Однако в диссертации недостаточно подробно поясняется физиологическое значение выявленной локализации этих ферментов.

Третье. При обсуждении полученных данных об аксональном транспорте  $\alpha 7$  рецептора никотинового чувствительными нейронами спинномозговых ганглиев автор приводит много анатомической терминологии о строении спинного мозга, его корешков и т.п. Также приводятся данные о совместной экспрессии  $\alpha 7$  рецептора и нейропептида CGRP в нервных волокнах. В данном случае представляется целесообразным приведение общей схемы, наглядно демонстрирующей полученные результаты.

И четвертое. Фармакокинетика и миорелаксantный эффект лекарственного средства на основе аземеиопсина изучалась при его внутривенном и внутримышечном введении мышам. Однако автор затрудняется отнести этот препарат к какому-то определенному классу недеполяризующих миорелаксантов, т.к. классификация разработана в соответствии с продолжительностью их действия при введении человеку. Исходя из имеющихся данных, можно ли приблизительно оценить, какова будет продолжительность действия этого пептидного миорелаксанта для человека? И, соответственно, какие перспективы его применения могут быть?

Но перечисленные замечания не умаляют и, соответственно, работа поддерживается. Диссертация Шелухиной является законченным научным исследованием, соответствующим всем критериям и требованиям ВАК, а сам диссертант несомненно заслуживает присвоение искомой степени доктора химических наук по специальности

02.00.10 – «биоорганическая химия». Подписано Кочетков Сергей Николаевич, доктор химических наук, академик РАН и заведующий лабораторией в Институте молекулярной биологии имени В. А. Энгельгардта.

**Председатель:** Все, спасибо. Ну, Ирина Валерьевна, я думаю, ответит на те 4 вопроса, которые были.

**Ученый секретарь:** Но там фактически даже меньше 4.

**Соискатель (Шелухина И.В.):** Спасибо, Владимир Александрович. Действительно на первый вопрос фактически я уже отвечала, по поводу сайта связывания при неконкурентном взаимодействии нейротоксинов с ГАМКА-рецепторами. Вопрос был, по моему, от Ефремова Романа Гербертовича. Второй вопрос по поводу ацетилхолин- и бутирилхолинэстераз в нервных волокнах твердой мозговой оболочки, т.е. каково физиологическое значение выявленной локализации этих ферментов. Хорошо известно, что в твердой мозговой оболочке основные ноцицептивные нервные волокна расположены вблизи кровеносных сосудов. И таким образом, предпочтительная экспрессия холинэстераз именно в нервных волокнах, окружающих кровеносные сосуды, указывает либо на их непосредственную экспрессию ноцицептивными аксонами или на очень близкое расположение к ним холинэргических нервных волокон. И то, и другое было подтверждено в последующих опытах, т.е. и ноцицептивные аксоны содержали холинэстеразы, и холинэргические, естественно, нервные волокна тоже иннервировали ноцицептивные аксоны.

Следующий вопрос по поводу, да, по поводу анатомии расположения. Когда изучался аксональный транспорт совместный  $\alpha 7$  никотинового рецептора и нейропептида CGRP в аксонах чувствительных спинномозговых ганглиев, то нужно учитывать, что эти аксоны, вернее эти нейроны, обладают уникальными аксонами. Один как бы с одной стороны аксон идет в спинной мозг, с другой стороны – на периферию. Причем при передаче нервного импульса тело нервной клетки не участвует в нейротрансмиссии. И при изучении аксонального транспорта опыт заключался в том, что производилось пережатие либо заднего корешка спинного мозга, либо спинномозгового нерва и, соответственно, либо аксона, который шел в спинной мозг этих нейронов, либо аксона, который шел на периферию. Также было пережатие произведено переднего корешка, в данном случае передний корешок составляют аксоны мотонейронов, и это был просто отрицательный контроль, который здесь виден. Во всех остальных случаях мы видели накопление  $\alpha 7$  никотиновых рецепторов, а при совместной детекции  $\alpha 7$  и CGRP, соответственно, мы

увидели совместную локализацию их в некоторых ноцицептивных аксонах чувствительных афферентных нейронов. Таким образом, вот эта схема объясняет полученные результаты по пережатию корешков и нервов и накоплению никотиновых рецепторов и нейропептида CGRP.

Последний вопрос по поводу продолжительности, отнесения аземиопсина к миорелаксантам средней или длительной продолжительности действия. Дело в том, что классификация миорелаксантов разработана для человека. Доклинические испытания были проведены на мышах и крысах. И дело в том, что уже даже при переходе на крыс мы видели, что при внутримышечном введении максимальная концентрация аземиопсина в крови достигалась не как в течение 5 минут у мышей, а уже в течение часа, а период его полувыведения увеличивался с 20 минут до 2,5 часов. Соответственно, спрогнозировать, какая именно длительность действия будет у человека довольно сложно. Но скорее всего это все-таки миорелаксант с длительным действием. Во всяком случае по сравнению с действием у мышей известных клинических миорелаксантов, которое заканчивалось буквально там в течение 5 минут, все-таки аземиопсин уже действовал там до 40 минут. То есть мы предполагаем, что все-таки у него именно длительное миорелаксантное действие. Спасибо.

**Председатель:** У нас завершилось запланированное сейчас оппонирование и ответы на все замечания оппонентов. Открываем общую дискуссию. Кто хотел бы высказаться по поводу работы, по поводу голосования в любом аспекте? Виктор Ионович, наверняка, хочет сказать о диссертанте что-то. Можно прямо с того микрофона.

**Цетлин Виктор Ионович, д.х.н., чл.-корр. РАН, научный консультант:** Я постараюсь, меня слышно, да?

**Председатель:** Вполне

**Цетлин Виктор Ионович, д.х.н., проф., чл.-корр. РАН, научный консультант:** *(Излагает отзыв научного консультанта. Отзыв положительный. Отзыв прилагается)* Я, как бы все-таки традиционно хочется начать с впечатления научного руководителя, потому что Ирина - это явление в нашей лаборатории и по методологии, и по тому, каких она людей воспитала, и вот эти какие новые методики были привнесены в лабораторию, Ира была в центре этого всего. И я хочу сказать, что упоминались там 23 публикации, ну они с широкой географией: там и Европа, и там и т.д., и т.д. и это ее личное участие. Она прекрасно находила разговор в нашей лаборатории, умудрялась говорить с руководителем лаборатории, отдела, а еще более важно, она приводила классную

молодежь. И я хочу сказать, что неслучайно в конце 2019 года, по-моему, 2019 защищалась Катя Спирова, у которой даже еще срок аспирантуры не кончился, это был 100% продукт Ирины. Еще хочу сказать, что предзащита состоялась почти 3 года назад вот эта, но немножко это оттянулось, потому что наряду с 23 публикациями, в которых много авторов и отечественных и зарубежных, Ирина вместе с Сергеем Ковальчуком сделала публикацию одну на двоих – дочку Анастасию. Может, поэтому немножко вот этот момент затянулся. Ну, здесь и ковид, и все остальное прочее. То есть я хочу здесь сказать, что я просто счастлив, что эта защита состоялась, я счастлив, что наш институт дает возможность в трудных условиях, в трудное время все-таки собраться, позвать людей, все это провести, т.е. я благодарен и институту, и Ирине. В итоге, значит, хочу суммировать свою двойную благодарность тем, что, конечно, как член совета я проголосую «ЗА» и очень призываю сделать это остальных членов совета. Да, и еще два слова. Я очень признателен оппонентам и отчасти для меня даже было немножко неожиданно столь детальное проникновение в эту работу. Ну это неслучайно, потому что пока защита не отменилась от ковида, у нас должен был быть оппонент Магазанник, просто корифей в области рецепторов. Но двое других тоже показали, что эта работа вызывает очень большой интерес! Спасибо, жду позитивных голосований.

**Председатель:** Спасибо, я думаю, что вас услышат. Кто-нибудь еще хотел бы в дискуссии выступить? Вот я смотрю внимательно в зал. Александр Габирович.

**Габиров Александр Габирович, д.х.н., академик РАН, директор ИБХ РАН, член совета:** Я, извините, мне просто звонил Михаил, директор ИОХа, значит сейчас. Значит, я имею, так сказать, вот удовольствие, спасибо за предоставление слова, так которое я взял достаточно волонтеристски. Прекрасный, прекрасный доклад сделала Ирина и я хочу как раз несколько слов сказать корреспондирующих тому, что сказал здесь член-корреспондент Цетлин. Значит, это образец вот такой все-таки биохимической я бы сказал работы. Я не знаю, я говорю может быть что-то не совсем правильное, потому что защищается по биоорганической химии диссертация, да, мне кажется, по биоорганической химии. Ну, это, в общем, конечно, классическая всеобъемлющая биохимическая работа, которой можно гордиться. И очень хорошо, что под руководством, ну, при консультации, значит, Виктора Ионовича удалось осуществить очень комплексный такой подход к достаточно сложной, довольно древней с точки зрения изучения системы вот этой рецепции. Я думаю, что у Ирины очень хорошее будущее. Вот и мы надеемся на то, что сможем в административном плане на нее положиться, если Виктор Ионович

решит, это могут быть и группы, и лаборатории и т.д. Мы будем с ним обсуждать, это будут не какие-то приказные действия, а общие обсуждения и я надеюсь, что Ирина сможет еще сделать очень многое и в фундаментальной области, хотя здесь Татьяна Владимировна выступала и здесь явно есть практический выход. Ну, я призываю голосовать «ЗА», вот, я получил большое удовольствие и от чтения статей, и так сказать, от доклада, спасибо.

**Председатель:** Спасибо. Есть еще желающие участие в дискуссии принять? Я не вижу. Если я прав, ну похоже я прав. Ну, тогда Ирина Валерьевна, вы можете завершить дискуссию своим заключительным словом.

**Соискатель (Шелухина И.В.):** Большое спасибо за возможность поблагодарить всех участников этой большой работы, я буквально вернусь вот к этому списку. Конечно же, большая благодарность оппонентам, потому что это большой труд прочитать, вникнуть, задать вопросы, и даже на самом деле приехать в настоящее время. Поэтому я очень благодарна очень внимательным оппонентам за их критические замечания. Они мне помогли даже в процессе создания вот это доклада. Безусловно, огромную роль сыграл мой научный консультант, без него бы, наверное, еще затянулась эта несколько защита. Всегда всесторонняя поддержка работы, очень позитивная и очень дружественная атмосфера в лаборатории, это могут отметить все, кто приходит в нашу лабораторию, начиная от студентов 2 курса, заканчивая любыми коллабораторами. Безусловно, огромное спасибо всем моим коллабораторам, их действительно очень много. Это и мои коллабораторы из Института биофизики клетки, из ТИБОХа, Института биологии развития, из ФИБХ и т.д., из многих-многих университетов в Германии, Финляндии, Англии и т.д. Даже буквально вчера вот из Финляндии тоже спрашивали: «Ну как? Как подготовка? Все ли в порядке?» То есть люди не теряются и стараются поддерживать связи. И я надеюсь, что мы продолжим совместные работы как с немецкими коллегами, так и с финскими коллегами и будем расширять, потому что расширять наши связи, потому что это самое-самое важное, пожалуй, в эффективной научной работе. Большое спасибо, конечно же, всей моей семье за всестороннюю поддержку на всех этапах данной длительной работы. Большое спасибо всем за внимание.

**Председатель:** Мы достойно завершаем дискуссию и дальше мы должны выбрать счетную комиссию. И у меня уже готовы согласованные предложения без регалий, имён, отчеств: Овчинникова, Зубов, Олейников, все они согласованы. Есть ли какие-то отводы по этим кандидатурам? Если таковых нет, прошу голосовать за данный состав счетной

комиссии. Кто за? Кто возражает? Счетная комиссия выбрана, она готова к работе. Вот, а сейчас, перед тем как объявить короткий перерыв обычно мы предварительно рассматриваем предложения по заключению диссертационного совета для того, чтобы дальше проще было голосовать по нему. Есть какие-то замечания по поводу проекта заключения нашего совета? Николай Владимирович частенько тут дает свои предложения, других я не замечал, кто бы это так активно делал. Так, Николай Владимирович что-то такое заготовил. Слушаем внимательно.

**Бовин Николай Владимирович, д.х.н., член совета:** Написано очень хорошо, но у меня есть пожелание. Все-таки когда мы читаем положение о докторских диссертациях, там написано, что докторская диссертация – это должно быть развитие какого-то нового направления в науке. Вот в заключении я соответствующей фразы не увидел, т.е. по сути все понятно, но там перечисляется много-много всего очень хорошего, красивого и полезного, но слов про направление - нет. Я рекомендую добавить.

**Председатель:** Что на эту тему скажет диссертант или его консультант? Готовы такую редакционную правку внести? В рабочем порядке и мы можем голосовать. У вас есть предложение? А, хорошо. Значит, если это будет внесено, уже можно будет голосовать с учётом того, что эта поправка будет внесена. Татьяна Владимировна, у вас еще замечание есть?

**Овчинникова Татьяна Владимировна, д.х.н., член совета:** Небольшие, после Николая Владимировича обычно нечего делать вот на этом поле, но есть некоторые маленькие мухи. Должна сказать, что действительно написано очень хорошо, но все-таки. На странице 4, там где вопросы оппонента Сергея Николаевича Кочеткова, такой оборот «какова ожидается продолжительность его действия». Все-таки немножко не по-русски, я бы написала: «какова ожидаемая продолжительность». Или надо поменять порядок слов, тогда «какова продолжительность» и так далее. Ну в общем, предлагаю «какова ожидаемая продолжительность». Теперь на странице 6. «Пересмотрена селективность». Все-таки, наверное, пересмотрены представления о селективности. Дальше, это первый абзац. Теперь предпоследний абзац: «электрофизиология активности проводилась в лаборатории». Значит, все-таки, наверное, лучше «электрофизиологические измерения активности проводились в лаборатории». И 7 страничка, это второй абзац: «существенный вклад в развитие теории и практики таких областей знаний как». Ну, вот не очень нравится «практики таких областей знаний», поэтому может быть предложить «в развитии таких областей знаний как биоорганическая химия, молекулярная биология,

нейрохимия, биомедицина, а также созданы предпосылки для практического применения полученных результатов».

**Председатель:** Т.е. у вас есть редакционные предложения. Я предлагаю считать, что в рабочем порядке Татьяна Владимировна согласует с авторами это заключение, и мы можем голосовать, как бы, ну, уже за отредактированный текст. И это, так сказать, будет правильным решением. Но это надо будет делать после того как будут объявления итоги голосования.

*(Проходит тайное голосование)*

**Председатель:** Так, уважаемые коллеги, самый важный момент. Владимир Александрович, пожалуйста, доложите результаты.

**Ученый секретарь:** Да, счетная комиссия закончила свою работу, так что я готов огласить результаты подсчета. Значит, Шелухина Ирина Валерьевна. Присутствовал на заседании 21 член совета, роздано бюллетеней 21, оказалось в урне 21. Результаты: «за» - 20, «против» - нет, «недействительный» - 1.

**Председатель:** Спасибо. Так, предлагаю утвердить результаты голосования. Кто за? Против? Воздержался? Единогласно. *(итоги тайного голосования утверждены единогласно)* Так, ну и нам осталось утвердить, сейчас утвердим сначала проект заключения совета. Уважаемые члены диссертационного совета, кто за то, чтобы утвердить наше заключение совета? Кто за? Против? Воздержался? Нет, ну, таким образом, мы завершили сегодня работу. *(Проходит голосование по проекту заключения диссертационного совета. Проект заключения принимается единогласно.)* Очень приятно было слушать и вы показали, на мой взгляд, очень высокий научный уровень, и от души мы вас всех поздравляем, спасибо!

Председатель диссертационного совета  
академик РАН

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор физ.-мат. наук



*(Handwritten signature: Ivanov V.T.)*  
Иванов В.Т.

*(Handwritten signature: Oleynikov V.A.)*  
Олейников В.А.