

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Жилиякова Никиты Викторовича на тему «Роль холинорецепторов в регуляции кальциевого транзientа и освобождения нейромедиатора в нервно-мышечном синапсе мышцы», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. – биофизика (биологические науки)

Актуальность избранной темы исследования

Диссертационная работы Н.В. Жилиякова посвящена изучению механизмов нейротрансдачи в холинергических синапсах млекопитающих. Несмотря на то, что данная проблема изучается со второй половины прошлого века, к настоящему моменту остается большое количество «белых пятен» и вопросов относительно ряда аспектов функционирования синаптического контакта. Так, в частности, кальций - ион, являющийся триггером для экзоцитоза синаптических везикул, и в то же время активатором ряда внутриклеточных сигнальных белков, активность которых непосредственно влияет на процесс экзоцитоза. В связи с этим, важно установить, функционирование каких белковых структур оказывает влияние на процесс регуляции пресинаптического уровня кальция (кальциевого транзientа) в нервных окончаниях.

Пресинаптические холинорецепторы опосредуют процесс ауторегуляции выделения ацетилхолина, необходимый для обеспечения надежности передачи информации между нейронами и мышцами при различных физиологических состояниях синапса. Результаты исследований по изучению ауторегуляции холинергической нейросекреции могут учитываться при лечении в случаях отравления фосфоорганическими соединениями, а также при миастенических синдромах.

Диссертационная работа Жилиякова Н.В. является актуальным исследованием и имеет не только важное фундаментальное, но также и прикладное значение, расширяющее понимание функционирования моторных синапсов у млекопитающих.

Структура работы и общая характеристика работы

Диссертационная работа Жилиякова Н.В. представлена на 171 странице машинописного текста. Структура диссертации общепринятая, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и обсуждения, заключения. Работа завершается изложением выводов и приложением списка цитируемой литературы. В последнем представлена 381 работа, из которых 378 на английском языке. Иллюстративный материал включает в себя 36 рисунков и 4 таблицы. Диссертация написана хорошим научным языком, грамотно и лаконично.

Во «Введении» (с. 6-11) автором определены актуальность работы; степень разработанности темы, цель и задачи исследований; показаны научная новизна; теоретическая и практическая значимость работы; представлены положения, выносимые на защиту; описаны методы исследования; степень достоверности и апробация результатов исследования, публикации по теме диссертации, объем и структура работы

«Обзор литературы» подробно изложен на 58 страницах. Он состоит из 8 разделов, в которых рассматриваются основные аспекты функционирования синапсов, типы кальциевых каналов и их свойства, холинорецепторы и их роль в процессе нейротрансмиссии, а также современные методы регистрации изменений кальция в клетках. Автор приводит сведения о механизмах функционирования синапсов, которые были установлены ранее, в частности, о роли холинорецепторов в процессе нейросекреции.

Раздел «Материалы и методы» описан на 10 страницах. Такой сравнительно большой объем обусловлен подробным описанием метода регистрации кальциевого транзientа, который был разработан в ходе настоящего исследования. Данный раздел так же хорошо иллюстрирован.

«Результаты и обсуждение» изложены на 50 страницах, где автор подробно описывает эффекты физиологически-активных соединений, модулирующих кальциевый транзient и оказывающих эффекты на количество нейромедиатора, выделяющегося при стимуляции двигательного нерва.

Первый раздел главы «Результаты и обсуждение» посвящен валидации представленного метода оптической регистрации кальциевого транзientа. В этом разделе так же рассмотрены источники кальция, участвующие в формировании кальциевого транзientа.

Во втором разделе описана роль никотиновых рецепторов в регуляции пресинаптического уровня кальция и выделения нейромедиатора. Показано, что активация никотиновых рецепторов приводит к увеличению амплитуды кальциевого транзientа, что сопровождается снижением квантового выброса нейромедиатора. Наблюдаемые эффекты связаны с модуляцией работы кальциевых каналов L-типа.

В третьем разделе исследована роль активации мускариновых рецепторов в регуляции выброса нейромедиатора и модуляции пресинаптического уровня кальция. Приведены данные, которые свидетельствуют о том, что активация мускариновых рецепторов как эндогенно, так и экзогенно приводит к снижению пресинаптического уровня кальция и уменьшению выброса нейромедиатора. Мускариновые рецепторы способны регулировать вход кальция через кальциевые каналы P/Q-типа и выброс из эндоплазматического ретикулума через рианодинные рецепторы.

Полученные результаты подробно анализируются и развернуто обсуждаются. На их основании, вкупе со ссылками на работы других исследователей, строятся гипотезы и предположения о механизмах влияния холинергических рецепторов на кальций-чувствительные белки и, как следствие, на изменения процессов выделения нейромедиатора.

В разделе «Заключение» (7 страниц) обобщены экспериментальные данные диссертационной работы и представлена схема осуществления ауторегуляции выброса ацетилхолина при активации пресинаптических холинорецепторов. Сформулированные выводы являются объективными, всесторонне обоснованными, согласуются с задачами и логически вытекают из результатов экспериментов. Диссертационная работа Жиликова Н.В. выглядит завершенным исследованием и содержит новые научные результаты.

Автореферат диссертации (24 страницы) написан в лаконичной форме и в полной мере отражает сущность данной работы.

Научная новизна

В данной работе автором впервые представлен новый метод доставки флуоресцентного красителя в двигательные нервные окончания млекопитающих. Этот метод позволяет избирательно окрашивать нервные окончания, что является большим преимуществом при анализе и интерпретации полученных результатов, так как в регистрируемом сигнале отсутствуют компоненты от окружающих тканей (как это бывает при использовании красителей, которые не избирательно проникают во все клетки экспериментального препарата).

Автор впервые показал, что изменение активности холинорецепторов приводит к изменению кальциевого входа через потенциал-чувствительные кальциевые каналы. Результаты, полученные в рамках настоящего исследования, вне всяких сомнений расширяют представление о механизмах внутриклеточной сигнализации и работы синапсов. Так, например, было показано, что активация никотиновых холинорецепторов, содержащих $\beta 2$ -субъединицу, влияет на вход кальция через потенциал-чувствительные кальциевые каналы L-типа, в результате чего, меняется квантовый состав потенциалов концевой пластинки. В тоже время, активация мускариновых холинорецепторов сказывается на работе основного типа потенциал-чувствительных кальциевых каналов двигательных нервных окончаний млекопитающих – P/Q-типа.

Вышеперечисленные основные результаты, несомненно, обладают научной новизной, имеют фундаментальное и прикладное значение.

Степень обоснованности и достоверности полученных результатов

Большой объем экспериментальных данных, грамотное применение методических подходов, совместно с использованием валидных статистических подходов позволяет не сомневаться в достоверности полученных результатов. Выводы в полной мере соответствуют поставленной цели и логически обоснованы. Достоверность выводов и практических предложений, сформулированных в диссертации, не вызывает сомнений и подтверждается большим объемом полученного фактического материала с использованием современных методик.

Полученные данные прошли необходимую научную экспертизу в результате публикации в материалах конференций и в журналах, рекомендуемых высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации (ВАК РФ). Основные положения и результаты настоящего исследования были доложены и обсуждены на всероссийских и международных конференциях. Всего опубликовано 5 статей в журналах, индексируемых в международных базах цитирования *Web of Science* и *Scopus*.

Личный вклад соискателя в реализацию научной проблемы, объем обработанного материала не вызывает сомнений.

Замечания и вопросы

Принципиальных замечаний по работе у меня не возникло. В качестве замечаний можно отметить небольшое количество опечаток.

Так же имеется несколько вопросов дискуссионного характера:

1. Применение мускарина снижало квантовый состав незначительно, примерно на 5%, но при этом кальциевый транзистент уменьшался на 19% - существенно сильнее. Чем может быть обусловлено данное различие?

2. В работе показан эффект дигидробетаэритроэдина на кальциевый транзистент, однако при этом изменений квантового состава не наблюдается. Как автор может объяснить наблюдаемый эффект?

Заключение

Диссертационная работа Жиликова Никиты Викторовича на тему «Роль холинорецепторов в регуляции кальциевого транзистента и освобождения нейромедиатора в нервно-мышечном синапсе мышцы» является самостоятельным законченным научно-квалификационным исследованием, выполненным на высоком уровне. Полученные автором результаты достоверны, выводы и заключения обоснованы. Результаты исследования

достаточно отражены в публикациях. Оформление диссертации заслуживает высокой оценки, а содержание автореферата полностью отражает сущность данной работы.

По актуальности, использованию широкого набора методов, новизне, объему экспериментальных данных, научной и практической значимости диссертационная работа полностью соответствует требованиям раздела II «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденных постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г. (ред. от 26 сентября 2022 г. №1690), а ее автор, Жилияков Никита Викторович, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. – биофизика

20 сентября 2022

(дата)

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук
(специальность 03.03.01 – физиология),
доцент кафедры медико-биологических
дисциплин Федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Поволжский
государственный университет физической
культуры, спорта и туризма».

Адрес: 420010, РТ, г. Казань, Деревня Универсиады, д. 35.

Телефон: +7 (843) 294 90 66

e-mail: tat-gain@mail.ru

Богодвид Татьяна Халиловна

