



ФЕДЕРАЛЬНОЕ МЕДИКО - БИОЛОГИЧЕСКОЕ АГЕНТСТВО
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР МОЗГА И НЕЙРОТЕХНОЛОГИЙ»
ФЕДЕРАЛЬНОГО МЕДИКО - БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТСТВА
(ФГБУ «ФЦМН» ФМБА РОССИИ)

ул. Островитянова, д. 1, стр. 10, Москва, 117513, тел.: 8 (800) 505-09-76, e-mail: info@fccps.ru, fcmn@fmbamail.ru
ОКПО 31574002 ОГРН 1187746642302 ИНН 7728434750 КПП 772801001

ОТЗЫВ

**официального оппонента заведующего лаборатории электрофизиологии ФГБУ
«ФЦМН» ФМБА России, к.б.н. Розова Анжрея Владимировича
на диссертацию Никиты Викторовича Жиликова
на тему: «Роль холинорецепторов в регуляции кальциевого транзientа и
освобождения нейромедиатора в нервно-мышечном синапсе мышцы»
на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.2. - биофизика**

Актуальность работы

Одним из наиболее важных аспектов функционирования нервной системы в организме является синаптическая пластичность. Благодаря механизмам, лежащим в основе пластичности, устанавливаются прочные связи между клетками, обеспечивающие надежность передачи сигнала. Один из таких механизмов – это процесс ауторегуляции выделения нейромедиатора из нервного окончания.

Изучение процессов ауторегуляции на синапсах головного мозга представляется достаточно затруднительным в связи с высокой плотностью синаптических контактов и большим количеством нейромедиаторов разного происхождения. В то же время, холинергические синапсы в периферической нервной системе (включая синапсы между мотонейроном и скелетным мышечным волокном) формируются на достаточно большом расстоянии друг от друга и характеризуются наличием одного основного нейромедиатора ацетилхолина. В связи с этим, двигательные синапсы являются наиболее удобной моделью для изучения процессов ауторегуляции нейросекреции. Вполне вероятно, что некоторые установленные аспекты функционирования периферического синапса можно экстраполировать на холинергические синапсы центральной нервной системы.

Таким образом, диссертационная работа Н.В. Жиликова, посвященная исследованию механизмов регуляции кальциевого транзientа, а также выделения квантов нейромедиатора за счет работы холинергических рецепторов в двигательных синапсах млекопитающих, представляется актуальным исследованием в области биофизики и нейрофизиологии.

Структура работы

Представленная работа написана в классическом стиле: изложена на 171 странице, и состоит из следующих глав: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение». Каждый из разделов (кроме введения), сопровождается иллюстрациями, что в значительной степени облегчает восприятие излагаемого материала. Всего в работе представлено 36 рисунков и 4 таблицы. Работа завершается выводами на основе полученных результатов и весьма объемным списком литературы (381 источник). В целом, в работе представлен большой объем экспериментальных данных, для анализа которых были грамотно применены методы обработки и методы статистического анализа.

Обзор литературы составляет примерно треть работы, и состоит из 8-ми частей, посвященных 1) нейротрансмиссии в холинергическом синапсе, 2) внутриклеточному уровню кальция и кальциевому гомеостазу, 3) роли ионов кальция в процессах синаптической передаче, 4) потенциал-чувствительным кальциевым каналам, 5) холинергической регуляции выброса нейромедиатора и входа кальция в моторное окончание, 6) метаботропным рецепторам, 7) ионотропным рецепторам, 8) методам регистрации пресинаптического уровня кальция. Обзор освещает современные и классические работы и может быть полезен для подготовки лекционных курсов по физиологии синаптической передачи.

В следующей главе автор подробно изложил используемые методические подходы. Наряду с классическими электрофизиологическими техниками, в данной работе использовался метод визуализации кальциевого сигнала, сочетаемый с фармакологическими подходами. Методу регистрации кальциевого транзientа посвящено подробное описание, поскольку автор в ходе работы над диссертацией разработал данный экспериментальный подход применительно к периферическим

синапсам теплокровных животных. Представленные в диссертации методики и статистическая обработка результатов полностью обоснованы и грамотно применены.

Результатам, полученным в ходе выполнения работы, и их обсуждению данных посвящено 7 разделов. В первом разделе описаны предварительные эксперименты, которые показывают справедливость выбранных методических подходов, в частности метода визуализации кальциевого транзientа в нервно-мышечном синапсе.

Следующий раздел доказательно демонстрирует источники формирования кальциевого транзientа путем оценки его амплитуды в зависимости от содержания кальция во внеклеточной среде, а также в присутствии блокаторов различных кальциевых каналов.

Далее автор последовательно показывает влияние холиномиметиков на потенциалы концевой пластинки и связывает их эффекты с изменениями в амплитуде кальциевого транзientа. Автор подробно анализирует наблюдаемые эффекты, выясняя какие именно типы ацетилхолиновых рецепторов и кальциевых каналов лежат в основе механизма регуляции освобождения нейромедиатора.

Новизна исследования

Важным результатом настоящего исследования является разработанный метод загрузки флуоресцентного кальциевого индикатора непосредственно в нервную терминаль периферического синапса млекопитающего. Данный метод открывает возможности для использования флуоресцентных зондов самого широкого спектра (в частности, зонды, чувствительные к другим ионам). В связи с вышесказанным можно заключить, что разработанный автором методический подход может послужить мощным инструментом при выполнении дальнейших исследований в области физиологии периферической нервной системы.

Автором впервые было продемонстрировано, что активация пресинаптических никотиновых холинорецепторов приводит к увеличению кальциевого транзientа в двигательных нервных окончаниях мышцы. Кроме того, при помощи антагониста данного типа рецепторов было показано снижение амплитуды кальциевого транзientа. Наличие этого эффекта свидетельствует об активации

пресинаптических никотиновых холинорецепторов за счет эндогенного ацетилхолина. Далее было установлено, что в нервном окончании существует связь между никотиновыми рецепторами и кальциевыми каналами L-типа.

В рамках настоящей работы впервые было показано влияние мускариновых холинорецепторов M1 и M2 подтипов на вход кальция в двигательное нервное окончание мышцы. Согласно результатам исследования, активация этих рецепторов приводит изменению кальциевого транзientа через P/Q-тип кальциевые каналы и рианодиновые рецепторы.

Степень обоснованности научных положений, выводов

Научные положения сформулированы автором исходя из полученного им в ходе исследования массива данных. Достоверность полученных результатов подтверждается грамотным применением экспериментальных методов и статистического анализа данных. Все выводы аргументировано вытекают из полученных результатов исследования.

В пользу обоснованности выводов и положений, сформулированных в диссертации, свидетельствует также и тот факт, что результаты работы докладывались и не однократно обсуждались на крупных тематических конференциях, а также нашли свое отражение в 5 рецензируемых статьях в изданиях, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus.

Вопросы

1. Каким образом, по вашему мнению, активация мускариновых рецепторов приводит к уменьшению входа кальция через каналы P/Q-типа. Что может вести к уменьшению выброса кальция через рианодиновые рецепторы?
2. Краситель является хелатором кальция, почему он не влияет на секрецию?

Приведенные вопросы не умаляют значимости исследования. Диссертационная работа полностью отвечает 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)

Таким образом, соискатель **Жиляков Никита Викторович**, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 – биофизика.

Официальный оппонент:

Кандидат биологических наук, заведующий
лаборатории электрофизиологии
ФГБУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий»
Федерального медико-биологического агентства России

Контактные данные:

Телефон: +7 9167190112; e-mail: Rozov1151@gmail.com
Специальность, по которой защищена диссертация:
03.03.01 - Физиология (2000 г.)

Адрес места работы:

117513, Москва, улица Островитянова, 1, стр. 10,
Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный центр
мозга и нейротехнологий» Федерального медико-биологического агентства
России Лаборатория электрофизиологии
Тел: 8-495-280-3550; e-mail: info@fccps.ru

29.12.2022

(дата)

Розов Андрей Владимирович

