

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Жилякова Никиты Викторовича «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.

Передача импульса имеет химическую природу и вызывается высвобождением определенных нейромедиаторов из нервного окончания. Медиаторы диффундируют через синаптическую щель и на короткое время связываются со специфическими рецепторами на эффекторной клетке. В зависимости от рецептора результатом взаимодействия может быть как возбуждение, так и торможение. Обычно нейроны не касаются друг друга; вместо этого они общаются посредством трансмиссии нейромедиаторов через синапсы. При некоторых условиях нейроны рядом друг с другом могут общаться с помощью электрических импульсов через щелевое соединение.

Флуоресцентные методы регистрации, которые основаны на использовании кальций-чувствительных красителей, используются для анализа внутриклеточного кальция, в том числе быстрых изменений его концентрации в нервном окончании в ответ на потенциал действия. Поэтому исследования по изучению влияния пресинаптических холинорецепторов в изменение амплитуды кальциевого транзientа и процесса выделения нейромедиатора в двигательных синапсах мышцы является актуальным.

Научная новизна заключается в том, что впервые разработан метод для загрузки кальциевого красителя в двигательные синапсы мышцы через культуру нерва. Впервые доказано, что активация нейрональных никотиновых холинорецепторов сопровождается увеличением входа ионов кальция в двигательную терминаль через каналы L-типа.

Научно-практическая значимость заключается в разработке экспериментального подхода, позволяющего оценивать пресинаптический уровень кальция в периферических синапсах теплокровных животных.

Автор провел большие по объему исследования с помощью клинических, морфологических, статистических и других методов исследования, результаты которых представил в заключении.

Достоверность и обоснованность выводов достигнуты за счет правильного планирования экспериментов и интерпретации полученных результатов.

Основные результаты диссертационной работы опубликованы в 16 научных работах, в том числе 5 статей в рецензируемых журналах в международных базах Web of Science и Scopus.

Заключение. Проведенные Жияковым Никитой Викторовичем исследования, их анализ и интерпретация свидетельствуют о том, что сформулированная в работе цель достигнута, а поставленные задачи решены. Диссертация представляет собой законченную научно-квалификационную работу, результаты которой имеют важное практическое и теоретическое значение.

Диссертационная работа Жиякова Н.В. соответствует требованиям п.9 «Положение о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 - биофизика.

Доцент кафедры физиологии  
и патофизиологии, д.в.н.

Юлия Вадимовна Ларина

ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» 420029, г. Казань, Сибирский тракт, 35. Тел. (843) 273-97-14, E-mail:dskgavm@mail.ru

Подпись *Лариной Ю.В.*  
ЗАВЕРЯЮ:  
Ученый секретарь *Н.В. Шихов*  
Федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего образования  
«Казанская государственная академия  
ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана»  
« 21 » ноября 2022г.



## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Жиликова Никиты Викторовича  
«РОЛЬ ХОЛИНОРЕЦЕПТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ КАЛЬЦИЕВОГО ТРАНЗИЕНТА И  
ОСВОБОЖДЕНИЯ НЕЙРОМЕДИАТОРА В НЕРВНО-МЫШЕЧНОМ СИНАПСЕ  
МЫШИ», представленной на соискание ученой степени кандидата  
биологических наук по специальности 1.5.2. – Биофизика

Диссертация Жиликова Н.И. посвящена изучению вклада пресинаптических холинорецепторов в изменение амплитуды кальциевого транзиента и процесса выделения нейромедиатора в двигательных синапсах мышцы. Актуальность данной работы не вызывает сомнения, она обусловлена тем, что холинергическая нейротрансмиссия является ключевым звеном передачи сигнала в периферическом отделе и ряде структур центральной нервной системы, однако ряд аспектов ее модуляции до сих пор не установлены, а их понимание необходимо для поисков эффективных способов терапии некоторых нейродегенеративных заболеваний.

Диссертант четко формулирует цель и задачи исследования, адекватно задачам использует современные методические подходы. В работе успешно применяются биофизические, электрофизиологические методы, а также методы оптической визуализации кальциевых транзиентов. Методический уровень работы очень высок. Использование комплекса современных методов, обширный объем экспериментальных данных, корректная статистическая обработка данных и их наглядное представление позволяют говорить о научной достоверности и надежности результатов.

Автором получены новые важные экспериментальными данные, например, показано, что активация нейрональных никотиновых холинорецепторов сопровождается увеличением входа ионов кальция в двигательную терминаль через каналы L-типа, активация мускариновых рецепторов приводит к снижению величины кальциевого транзиента, за счет модуляции работы P/Q-типа каналов и рианодиновых рецепторов. Автором был разработан метод для загрузки кальциевого красителя в двигательные синапсы мышцы через культю нерва.

Несомненно, позитивным моментом работы является попытка автора показать практическое применения полученных результатов, что в дополнение к теоретической ценности работы для современной биофизики и нейробиологии придает работе прикладное значение.

Выводы по диссертации конкретны и содержательны, сформулированы в соответствии с поставленными задачами. Автореферат в целом хорошо оформлен и иллюстрирован. Результаты диссертационного исследования опубликованы в ведущих международных и российских научных журналах, апробированы на целом ряде престижных научных конференций.

В качестве небольшого замечания отмечу, что на рис. 2, рис. 3в и некоторых других на оси ординат приведены только единицы измерения, но не указано, что именно измеряется.

В целом, диссертационная работа Жиликова Никиты Викторовича «Роль холинорецепторов в регуляции кальциевого транзиента и освобождения нейромедиатора

в нервно-мышечном синапсе мышцы» производит положительное впечатление представляет собой законченную научно-квалификационную работу, решившую актуальную задачу современной биофизики – вклада пресинаптических холинорецепторов в изменение амплитуды кальциевого транзientа и процесса выделения нейромедиатора в двигательных синапсах мышцы.

С учетом актуальности работы, ее несомненной научной новизны и практической значимости, считаю, что диссертация полностью соответствует критериям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (в ред. Постановления Правительства РФ от 28.08. 2017 г. № 1024), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. – «биофизика».

Заведующий лабораторией  
Молекулярных механизмов нейронных взаимодействий  
Федерального государственного бюджетного  
учреждения науки Института эволюционной  
физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова  
Российской академии наук,  
доктор биологических наук

Зайцев Алексей Васильевич

*Подпись Зайцева А.В. заверяю.*

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук

Кандидат биологических наук  
«29» декабря 2022 г.

Е.И. Гальперина



Адрес: 194223, г. Санкт-Петербург, пр. Тореза, д. 44. Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук. тел.: 8(812) 552-30-12; e-mail: aleksey\_zaitsev@mail.ru

Отзыв  
на автореферат диссертации  
**Жилякова Никиты Викторовича**  
**«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)

В работе Н.В. Жилякова исследовалась холинэргическая регуляция кальциевого транзientа и освобождения нейромедиатора в нервно-мышечном синапсе мышцы. Представленные данные значимо расширяют наши представления о работе нервно-мышечного соединения. Для реализации поставленной задачи автор исследования разработал метод доставки флуоресцентного кальциевого индикатора непосредственно в нервные терминалы периферического синапса млекопитающего. Благодаря применению этого метода автору удалось показать, что активация пресинаптических никотиновых холинорецепторов приводит к увеличению кальциевого ответа в двигательных нервных окончаниях мышцы, но в то же самое время снижается численное количество выброшенных квантов медиатора. Кроме того, была автором выявлена связь между никотиновыми рецепторами и кальциевыми каналами L-типа, что имеет важное значение для изучения потенциальных возможностей модуляции нервно-мышечной трансмиссии.

В представленной работе было показано влияние мускариновых холинорецепторов M1 и M2 подтипов на вход кальция в двигательное нервное окончание мышцы. Согласно результатам исследования, активация этих рецепторов приводит к изменению кальциевого транзientа через P/Q-тип кальциевые каналы и рианодинные рецепторы. Наблюдаемые эффекты приводят к уменьшению выброса нейромедиатора.

Полученные в ходе выполнения работы результаты трактуются и обсуждаются полно и развернуто. Основываясь на данные литературы и собственные исследования, автор предлагает механизмы влияния холинэргических рецепторов на кальций-чувствительные белки и, как следствие, на изменения процессов выделения нейромедиатора.

Работа выполнена на высоком научном и методическом уровне с привлечением современных экспериментальных подходов. Все полученные данные и научные результаты не вызывают сомнения, и были опубликованы в международных реферируемых журналах, включая высоко цитируемые издания первого квартала. Из возможных пожеланий можно было бы предложить автору в будущем в названии своих работ стараться, если возможно, меньше использовать специализированные термины, если их можно заменить более

простым языком, не требующим для понимания чтения самой работы или обладания узкоспециальными знаниями.

Анализ представленного автореферата позволяет заключить, что работа «Роль холинорецепторов в регуляции кальциевого транзientа и освобождения нейромедиатора в нервно-мышечном синапсе мышцы» является законченной квалификационной работой, посвященной актуальной проблеме нейрофизиологии и полностью соответствует пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденных постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г. (ред. от 11 сентября 2021 г.). Учитывая новизну, большую теоретическую и практическую значимость полученных результатов, автор диссертационной работы, Жилияков Никита Викторович, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 – биофизика.

ведущий научный сотрудник  
лаборатории клеточной  
нейробиологии обучения ФГБУН Институт  
Высшей Нервной Деятельности  
и Нейрофизиологии РАН,  
доктор биологических наук

Никитин Е.С.

28.12.22

117485, г.Москва, ул. Бутлерова, д. 5А;  
+7(495) 334-70-00;  
nikitin@ihna.ru

Лоринев Е.С. Никитин Е.С. Удостоверено.  
Ученый секретарь СВНР, ИИ РАН  
К.С.Н., доц. Басинков Н.В.



## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Жилякова Никиты Викторовича «Роль холинорецепторов в регуляции кальциевого транзientа и освобождения нейромедиатора в нервно-мышечном синапсе мышцы», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. – биофизика

Участие ацетилхолина в механизмах синаптической пластичности – вопрос, который никогда не потеряет свою актуальность. В последнее время внимание исследователей привлекает тщательный анализ и изучение роли пресинаптических холинорецепторов в ауторегуляции синаптической передачи. Открытым остается вопрос о характере изменений кальциевого входа при активации холинергических рецепторов в периферических синапсах теплокровных животных.

Практическая значимость работы Жилякова Н.В. не вызывает сомнений, поскольку понимание роли тонких молекулярных процессов, на которых основана холинергическая регуляция имеет важное практическое значение для клинической практики при лечении заболеваний нервно-мышечного аппарата.

Новизна полученных автором данных не вызывает сомнений. Для решения сформулированных задач, Жиляков Н.В. разработал оригинальный метод для загрузки кальциевого красителя в двигательные синапсы мышцы через культю нерва. Проведенные исследования позволили автору сделать вывод о том, что амплитуда флуоресцентного кальциевого транзientа позволяет оценивать пресинаптический уровень кальция, который отвечает за выделение ацетилхолина в квантовом виде. Жилякову Н.В. впервые удалось показать, что при активации нейрональных никотиновых холинорецепторов наблюдается увеличение входа ионов кальция в двигательное нервное окончание через каналы L-типа. Экспериментально доказано, что активация мускариновых рецепторов приводит к снижению величины кальциевого транзientа. Этот эффект основан на модуляции работы каналов P/Q типа и рианодиновых рецепторов.

Полученные автором результаты имеют серьезный фундаментальный характер и выход в клиническую практику. Работа выполнена при поддержке грантами РФФИ № 13-04-00886, 16-04-01051, «Ведущая научная школа» НШ-5584.2014.4 и Программы №7 Президиума РАН.

Исследование выполнено на высоком методическом уровне. Методы исследования высокотехнологичны и адекватны поставленным задачам. Статистическая достоверность результатов не вызывает сомнений. Выводы соответствуют поставленным задачам и сделаны на основе анализа значительного фактического материала.

По теме диссертации опубликовано 16 печатных работ, в том числе 5 статей в рецензируемых журналах в международных базах Web of Science и Scopus представлены в виде 11 тезисов докладов на российских и международных съездах и конференциях.

После прочтения автореферата остается положительное впечатление о работе, а сама работа заслуживает высокой оценки. Автореферат в сжатом виде отражает суть диссертационного исследования.

Замечаний и вопросов нет.

Таким образом, по своей актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов, а также объему и уровню проведенного исследования диссертация Жиликова Никиты Викторовича «Роль холинорецепторов в регуляции кальциевого транзientа и освобождения нейромедиатора в нервно-мышечном синапсе мышцы» является законченной научно-квалификационной работой и полностью отвечает требованиям Постановления Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г., № 842 «О порядке присуждения ученых степеней», с изменениями постановления Правительства Российской Федерации от 26.09.2022 г., №1690 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней», а её автор Жиликова Никита Викторович заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности: 1.5.2. – биофизика.

Заведущий кафедрой физиологии нормальной  
Первого Санкт-Петербургского  
государственного медицинского  
университета им.акад. И.П.Павлова  
Министерства здравоохранения РФ  
доктор биологических наук, доцент

 Екатерина Валентиновна Лопатина



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им.акад. И.П.Павлова  
Министерства здравоохранения Российской Федерации Адрес: 197022; Санкт-Петербург,  
ул. Льва Толстого 6-8; тел.:8-812-338-66-04; адрес электронной почты:  
[evlopatina@yandex.ru](mailto:evlopatina@yandex.ru)