

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации А.Е. Гайдукова

**«УЧАСТИЕ ПРЕСИНАПТИЧЕСКИХ ВХОДОВ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ В МЕХАНИЗМАХ РЕГУЛЯЦИИ КВАНТОВОЙ СЕКРЕЦИИ НЕЙРОТРАНСМИТТЕРА»,**  
представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.5 – физиология

Исследование фундаментальных аспектов функционирования синаптического контакта является одним из центральных направлений в области нейрофизиологии. И хотя нервно-мышечный синапс (где передача сигнала опосредуется выделением из мотонейрона нейромедиатора ацетилхолина) является одним из наиболее изученных синапсов, тем не менее, интерес к нему не ослабевает до сих пор. Во многом это связано с тем, что: (а) холинергическая нейротрансмиссия лежит в основе передачи сигнала с мотонейрона на мышечное волокно; (б) холинергические контакты представлены в ряде областей головного мозга, включая структуры, участвующие в функциях высшей нервной деятельности; (в) холинергическая нейротрансмиссия опосредует передачу сигнала во всем парасимпатическом отделе вегетативной нервной системы. Принимая это во внимание, становится очевидной важность изучения молекулярных механизмов регуляции процесса нейросекреции ацетилхолина. В этой связи, данная диссертационная работа, посвященная выявлению широкого спектра тонких механизмов кальций-опосредованной регуляции квантового выделения ацетилхолина при разных формах активности, представляется весьма актуальной, а полученные результаты имеют несомненную значимость, как для фундаментальных проблем физиологии, так и для прикладных вопросов медицины.

Настоящее экспериментальное исследование выполнено на изолированных нервно-мышечных препаратах диафрагмы мышцы с помощью методов электрофизиологии и широкой гаммы селективных фармакологических агентов. В ходе выполнения исследования проанализирован вклад четырех различных источников входа кальция в цитоплазму нервной терминали (L-типа  $Ca^{2+}$  каналы, рианодиновые рецепторы, пуриновые P2X7 рецепторы,  $\alpha 7$ -холинорецепторы) и выявлены молекулярные механизмы, которые запускаются этим кальцием и приводят к тонкой регулировке процесса квантового выделения ацетилхолина. При этом получены очередные доказательства обсуждаемого в настоящее время факта того, что входящий кальций может как усиливать, так и угнетать процесс нейросекреции, не влияя на вероятность выделения отдельного кванта. Так, в частности, описана возможность двунаправленной регуляции кальцием, выделяющимся из внутриклеточного депо при активации рианодиновых рецепторов. Помимо этого, получен целый ряд новых данных о функционировании и регуляции L-типа  $Ca^{2+}$  каналов двигательного нервного окончания, установлены пути фармакологической активации и торможения активности каналов данного типа. Не менее интересными представляются данные, доказывающие существенную роль  $\alpha 7$ -холинорецепторов в регуляции нейросекреции в условиях длительной высокочастотной активности. Совокупность полученных экспериментальных данных позволяет автору заключить, что каждый  $Ca^{2+}$  вход запускает свой уникальный механизм и, таким образом, играет независимую роль в регуляции секреции медиатора. А это, в свою очередь, создает «дифференцированную адаптивную регулировку параметров секреции ацетилхолина» при функционировании синапса в различных условиях активности.

Автореферат написан достаточно хорошим академическим языком. Все ключевые результаты исследования прекрасно проиллюстрированы. Общая характеристика

исследования, основное содержание работы, вводная и заключительная части автореферата сбалансированы и позволяют получить полное представление о проделанной работе, которая завершается девятью выводами, соответствующими экспериментальным материалам.

При прочтении автореферата отмечена пара опечаток и возникли замечание, а также вопросы, хотя, возможно, последние и освещены в тексте диссертации.

*Замечания технического характера (опечатки):*

- (стр. 17) «...значение прироста амплитуд МПКП составило 150-160% от контроля (рис. 9Б,В)...», тогда как прирост на рисунке 50-60%

- (стр. 32) повтор слова «...могут могут...»

*Замечание:*

- (стр. 8) Диафрагма представляет собой мышечно-сухожильную перегородку, в которой анатомически выделяют несколько периферических мышечных отделов. В связи с этим некорректно использовать термин "*m. diaphragma*".

*Вопросы:*

- (стр. 8, 9) Чем была обусловлена необходимость регистрировать спонтанную активность в интактных препаратах, если она же регистрировалась и в экспериментах на «рассеченном» препарате для расчета квантового состава?

- (стр. 13, 14) Тетразиламмоний приводил к снижению амплитуды МПКП почти в два раза. Каков механизм этого эффекта на Ваш взгляд? И почему при действии 4-аминопиридина (также блокатора калиевых каналов) подобного эффекта не наблюдается?

- (стр. 39, 40) Как можно объяснить тот факт, что активация рианодинем рианодиновых рецепторов приводит к КГРП-опосредованному увеличению размера кванта АХ, тогда как при активации этих же рецепторов вследствие входа кальция через L-тип кальциевых каналов или  $\alpha 7$ -холинорецепторов увеличения размера кванта не происходит?

- Как приведенный метод расчета размера немедленно готового к освобождению пула (RRP) учитывает быструю (в течение миллисекунд) мобилизацию синаптических везикул сразу после первого стимула в пачке? Так, например, увеличение секреции нейромедиатора под действием S(-) Bay K8644 очевидно связано с увеличением  $Ca^{2+}$  входа и мобилизации синаптических везикул в ходе активности, а обозначенное увеличение RRP (рис 3В) является просто артефактом метода измерения RRP.

- Рианодин блокирует РиР в концентрациях выше 10 мкМ, а в работе была выбрана в качестве ингибирующей концентрация 2-3 мкМ. Можно ли привести константу ингибирования рианодинем, РиР разных подтипов, чтобы обосновать выбор концентрации 2-3 мкМ? При исследовании эффектов активации РиР, аппликация низкой дозы рианодина длилась более часа, как изменялась при этом частота спонтанной секреции и чувствительность nAхР?

Приведенные замечание и вопросы никоим образом не умаляют общей высокой оценки работы, материалы которой подробно освещены на авторитетных всероссийских и международных конференциях и представлены в виде 18 статей в рецензируемых журналах, включая такие издания как «*Purinergic Signalling*» и «*Neuroscience Letters*».

Судя по автореферату, диссертация Гайдукова Александра Евгеньевича «Участие пресинаптических входов ионов кальция в механизмах регуляции квантовой секреции нейротрансмиттера» отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода, а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, а соискатель Гайдуков Александр

Евгеньевич вполне заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.5 – “Физиология человека и животных”.

Д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории биофизики  
синаптических процессов  
Казанского института биохимии и биофизики  
ФИЦ КазНЦ РАН

 А.М. Петров

К.б.н., старший научный сотрудник лаборатории биофизики  
синаптических процессов  
Казанского института биохимии и биофизики  
ФИЦ КазНЦ РАН

 А.И. Маломуж

Контактные данные:

Петров Алексей Михайлович  
ведущий научный сотрудник лаборатории биофизики синаптических процессов, доктор биологических наук, доцент; Тел.: Эл.почта: Организация: Казанский институт биохимии и биофизики - обособленное структурное подразделение Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук»; Адрес организации: 420111, Казань, ул. Лобачевского, д. 2/3 1; Тел. Организации: +7(843)2927347; Эл.почта организации: kibmail@kibb.knc.ru  
Ссылка на официальный сайт организации: <http://www.knc.ru>

Маломуж Артем Иванович  
Старший научный сотрудник лаборатории биофизики синаптических процессов, кандидат биологических наук; Тел.;; Эл.почта: Организация: Казанский институт биохимии и биофизики - обособленное структурное подразделение Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук»; Адрес организации: 420111, Казань, ул. Лобачевского, д. 2/3 1; Тел. Организации: +7(843)2927347; Эл.почта организации: kibmail@kibb.knc.ru; Ссылка на официальный сайт организации: <http://www.knc.ru>

