

«Утверждаю»

Проректор – начальник

Управления научной политики

МГУ имени М.В.Ломоносова

А.А. Федянин

2021 года



### ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу Ивановой Виолетты Олеговны  
«Сравнительные электрофизиологические характеристики  
синаптических ответов на апикальных и базальных дендритах  
пирамидных нейронов гиппокампа»,

представленной на соискание ученой степени кандидата биологических  
наук по специальности 1.5.5 – «Физиология человека и животных»  
(биологические науки)

#### Актуальность диссертационной работы

Основным направлением диссертационной работы В.О. Ивановой является сравнительное исследование состава и функциональных свойств AMPA-рецепторов в апикальных и базальных дендритах пирамидных нейронов поля CA1 гиппокампа мышей. Аксоны пирамидных клеток поля CA1 гиппокампа являются основным источником выхода информации из гиппокампа в другие участки мозга, при этом их дендриты расположены в двух основных областях поля CA1: апикальные дендриты - в *stratum radiatum*, базальные – в *stratum oriens*. Еще одна молекула, которая играет ключевую роль в механизмах синаптической пластичности – это оксид азота (NO). В центральной нервной системе NO принимает участие во многих функциях, включая обучение и память, сон, движения, механизмы боли, стресс и репродуктивную деятельность. Его роль в формировании долговременной потенциации неоднократно была показана как для пресинаптического, так и для постсинаптического нейронов. NO также важен для обучения, консолидации и реконсолидации памяти. Понимание принципов работы синапсов и рецепторов, располагающихся на их мембране, позволяет

синапсов и рецепторов, располагающихся на их мембране, позволяет высказать определенные суждения о работе отдельного нейрона и сети, в которой он функционирует. Поэтому исследование пирамидных нейронов гиппокампа, их синапсов и механизмов, определяющих их работу, до сих пор остается актуальным в современной нейробиологии, направленной на изучение таких ключевых адаптивных процессов как память, научение и забывание.

Актуальность темы работы определяется еще и тем, что использование моделей нейронов с разделенными дендритами лежит в основе первых попыток объяснить, как искусственные нейронные сети могли бы биологически правдоподобным путем (как мозг решает) решать «задачу присвоения кредита» (“credit assignment problem”) [Guerguiev et al.: *Towards deep learning with segregated dendrites. eLife. 2017. 6: e22901; Sacramento et al.: Dendritic cortical microcircuits approximate the backpropagation algorithm. In 32nd Conference on Neural Information Processing Systems. 2018: 8721–8732*].

### **Структура и содержание работы**

Диссертация изложена на 115 страницах, состоит из 7 глав. включает 25 рисунков. Список литературы включает 279 источников, в том числе 1 отечественный и 278 зарубежных. Глава 1 – Введение, общая характеристика работы; здесь даётся достаточно полное представление об основных направлениях и полученных автором результатах, сформулированы основные положения, выносимые на защиту.

Глава 2 – Обзор литературы повествует о содержании и результатах исследований, проводимых в данном направлении: о свойствах апикальных и базальных дендритов пирамидных нейронов поля CA1 гиппокампа, о разновидностях ионотропных глутаматных рецепторов, проницаемых и непроницаемых для ионов кальция, и их роли в синаптической пластичности, об оксиде азота и его роли в синаптической проводимости (влияние на AMPAR и NMDAR), пластичности и памяти.

Следует заметить, что в обзоре мало представлена литература последних 5 лет (2017-2021): так, в разделе 2.2, посвященном свойствам AMPA-рецепторов только 5 таких работ, причем, в ключевых для диссертации разделах 2.2.1 (AMPA рецепторы и синаптическая пластичность) и 2.2.2

(Кальций-проницаемые АМПА рецепторы и синаптическая пластичность) только, соответственно, 1 и 2 работы. В разделе 2.2.2 автор говорит: «Таким образом, вопрос о том, включаются ли кальций-проницаемые АМПА рецепторы во время ДВП, как и в какой степени остается активной областью исследований», но важные здесь работы P. Park, G.L. Collingridg et al. цитируются только до 2016 г., а более поздние работы этих авторов – 2018, 2019 г.г. [*Park P. et al. The role of calcium-permeable AMPARs in long-term potentiation at principal neurons in the rodent hippocampus. Front Synaptic Neurosci. 2018: 10:42; Park P. et al. On the role of calcium-permeable AMPARs in longterm potentiation and synaptic tagging in the rodent hippocampus. Front Synaptic Neurosci. 2019.11:4598*], не говоря уже о работах 2021 г., - пропущены. Также последняя цитированная работа группы K. Nader et al., одной из наиболее активно работающих в этой области, датирована 2013 г. В результате, вероятно, наиболее существенный мотив – динамический обмен GluA1 и GluA2 АМПА-рецепторов в синаптической пластичности и памяти остался недостаточно проработан.

Глава 3 содержит подробное описание методики, в том числе условия содержания животных, приготовление срезов, электрофизиологические методы – пэтч-кламп, внеклеточная регистрация полевых ВПСП, схема проведения эксперимента и анализа поведения животных, применявшиеся препараты, способы обработки и статистического анализа полученных данных.

Результаты проведенных исследований представлены в главе 4.

Измерения ректификационных характеристик апикальных и базальных дендритов пирамидных нейронов и проверка чувствительности входов к антагонистам проницаемых для кальция АМПА рецепторов показали, что кальций-проницаемые АМПА рецепторы вносят большой вклад в синаптическую передачу на апикальных дендритах пирамидных нейронов CA1, чем на базальных дендритах.

В следующем разделе показано, как влияет блокада синтеза NO ингибиторами NO-синтазы на синаптические токи, вызванные активацией АМПА в апикальных и базальных дендритах. Ингибирование NO-синтазы значительно снижало индекс выпрямления на апикальных дендритах и предотвращало падение амплитуды тока во время блокады проницаемых для

кальция AMPA рецепторов. На основании этих и других результатов, представленных в диссертации, сделан вывод о том, что блокада NO-синтазы изменяет вклад проницаемых для кальция AMPA рецепторов в токи апикальных, но не базальных дендритов, тем самым нивелируя достоверную разницу между этими двумя входами.

Представленные автором данные о влиянии блокады NO-синтазы на потенциацию синаптической передачи в *str. radiatum* и *str. oriens* убедительно показывают, что в срезах предварительно обработанных блокаторами NO-синтазы величина потенцированных ответов ВПСП базальных дендритов через полчаса после индукции потенциации такая же, как в контроле без использования блокатора, а величина потенцированного ВПСП в апикальных дендритах снижается почти до фонового уровня. К сожалению, автор не приводит здесь фактических данных (собственных или литературных), в которых полученные эффекты влияния антагонистов NO на потенциацию сравнивались бы с эффектом непосредственной блокады кальций-проницаемых AMPAR.

При описании в этом разделе автор допускает серьезную терминологическую путаницу, называя регистрируемое усиление ответов «долговременной потенциацией» – «ДВП», говорит о ранней и поздней фазе ДВП, делает вывод о том, что «оксид азота необходим для поддержания долговременной потенциации на апикальных дендритах». Однако период регистрации длительностью 60 минут позволяет говорить в крайнем случае только о кратковременной потенциации. (Интересно, что в обзоре литературы используется совсем другое определение: «Ранняя фаза» ДВП... длится примерно 90 минут, ... «поздняя фаза» ДВП... длится дни или даже недели, требует транскрипции генов и синтеза новых белков»).

В заключительной части Результаты представлены данные, которые, по мнению автора, указывают на то, что «ингибирование синтеза оксида азота предотвращает нарушение памяти, вызванное блокадой синтеза белка во время реактивации условно-рефлекторного страха». Однако этот вывод не вполне убедителен. Данные, представленные на рис. 25, показывают, что блокаторы NO-синтазы не только купируют ослабление воспроизведения УР, вызванное циклогексепидом, но сами по себе (как ARL) или в сочетании с циклогексепидом (как 3-Br-7-ni) вызывают усиление замирания, причем

только этот эффект ARL оказался статистически достоверным в третьем тесте через неделю после обучения. Наиболее убедительным контрольным опытом здесь мог бы быть такой же по схеме введений опыт, но без предварительного напоминания. Здесь также заметим, что в тексте и на рис. 24 в качестве напоминания указан звук (условный сигнал), а на рис. 25 удар током.

Работу заключают Обсуждение, Заключение и Выводы.

### **Новизна исследования и полученных результатов**

С использованием электрофизиологических методов автором впервые показано, что существуют различия в участии кальций-проводящих AMPA рецепторов в вызванных постсинаптических токах апикальных и базальных дендритов пирамидных нейронов поля CA1 гиппокампа и наличие этих рецепторов на базальных дендритах пирамидных нейронов поля CA1 гиппокампа.

Впервые удалось заметить различия в NO-зависимой регуляции токов кальций-проводящих AMPA рецепторов между апикальными и базальными дендритами пирамидных нейронов поля CA1 гиппокампа, а также эффект ингибирования синтазы оксида азота при индукции долговременной потенциации в областях str. radiatum и str. oriens поля CA1 гиппокампа.

### **Обоснованность и достоверность научных положений, результатов и выводов**

Все статистические тесты проводились с использованием SigmaPlot 11.0 (Systat Software Inc, США). В ходе статистической обработки результатов использовали однофакторный дисперсионный анализ (One-Way ANOVA), двухфакторный дисперсионный анализ (Two-Way ANOVA) и двухфакторный дисперсионный анализ с повторными измерениями (Two-Way Repeated Measures ANOVA).

Автореферат соответствует основному содержанию работы. Он позволяет получить полное представление о результатах работы и их достоверности, а также актуальности, новизне и практическом значении выполненной работы.

### **Личное участие соискателя**

Автором самостоятельно проводилась подготовка переживающих срезов гиппокампа с последующей регистрацией методом пэтч-кламп, регистрация ВПСР в срезах гиппокампа, поведенческие эксперименты (в составе группы), статистический анализ результатов экспериментов, подготовка публикаций по теме диссертации (в составе группы).

### **Значимость для науки и практики**

Полученные диссертантом Ивановой В.О. результаты вносят вклад в представления о возможном распределении кальций-проводящих АМРА рецепторов в отростках пирамидных нейронов поля СА1 гиппокампа, а также в понимание роли NO в формировании синаптических характеристик на этих отростках.

Практическая значимость настоящего исследования связана с получением новых данных о вовлечении в патологические процессы как кальций-проводящих АМРА рецепторов, так и NO. Результаты проведенных исследований способствуют созданию более полной картины участия NO и кальций-проводящих АМРА рецепторов в физиологических процессах в норме и при патологии, могут предсказывать типы и степень синаптической пластичности – так называемый «АМРА код синаптической пластичности».

### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации, перспективы дальнейшей разработки темы**

Исследование Ивановой В.О. подчеркивает важность такого явления, как синаптическая гетерогенность, которая может лежать в основе особенностей обработки информации в гиппокампе, а исследование пирамидных нейронов гиппокампа, их синапсов и механизмов, определяющих их функционирование, актуально в современной нейробиологии, направленной на изучение таких ключевых адаптивных процессов как память, научение и забывание.

Неполное понимание молекулярных механизмов, лежащих в основе патологических изменений, препятствует созданию эффективных методов лечения, в то время как новые результаты могут способствовать созданию более полной картины участия NO и кальций-проводящих АМРА рецепторов в физиологических процессах в норме и при патологии.

Поэтому результаты диссертационной работы могут и должны быть использованы при чтении лекций-спецкурсов для аспирантов и студентов тех кафедр университетов России, которые имеют медицинскую и физиологическую направленность.

### **Публикации по теме диссертации и апробация работы.**

По результатам работы опубликованы 3 статьи в высокорейтинговых журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования РФ для публикации основных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Результаты диссертации были неоднократно представлены на научных конференциях и опубликованы в виде 7 тезисов.

### **Замечания и вопросы**

Замечания были высказаны по мере прочтения и экспертизы диссертационной работы, а диссертант сможет на них ответить в соответствии с процедурой защиты. Единственное замечание по тексту касается недопустимых аббревиатур «НМДА» и «АМПА», которые следовало бы заменить на NMDA и AMPA, соответственно, поскольку последние являются общепринятыми сокращениями химических соединений.

Диссертационная работа Ивановой В.О. не имеет принципиальных недостатков, которые бы снижали теоретическую и практическую значимость проведенного исследования.

### **Заключение**

Подводя общий итог, можно сказать, что указанные замечания носят в основном технический, терминологический и уточняющий характер и не изменяют общую положительную оценку работы.

Ивановой Виолеттой Олеговной представлена содержательная, интересная и перспективная работа, представляющая несомненный интерес для формирования общих представлений о патологических процессах в мозге, что позволяет заключить, что диссертационная работа Ивановой Виолетты Олеговны «Сравнительные электрофизиологические характеристики синаптических ответов на апикальных и базальных дендритах пирамидных

нейронов гиппокампа» по актуальности, научной новизне, практической значимости, методическому уровню, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов соответствует требованиям пунктов 9-10 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842 (с учетом Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 № 335 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор – В.О. Иванова заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 – «Физиология человека и животных» (биологические науки).

Отзыв составил Майоров Владимир Иванович, кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник кафедры высшей нервной деятельности биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова.

Отзыв на диссертацию и автореферат Иванова В.О. обсужден и одобрен на заседании кафедры высшей нервной деятельности биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова от 17 ноября 2021 года, протокол № 9.

Составитель отзыва:

Майоров Владимир Иванович  
кандидат биологических наук, доцент,  
ведущий научный сотрудник  
кафедры высшей нервной деятельности,  
Адрес электронной почты: [vimaiorov@mail.ru](mailto:vimaiorov@mail.ru)

Заведующий кафедрой высшей нервной деятельности  
доктор биологических наук, профессор

А.В. Латанов

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования «Московский государственный университет имени  
М.В.Ломоносова»

Адрес: 119991, Российская Федерация, Москва, Ленинские горы, д. 1

Телефон: +7 (495) 939-10-00

Сайт: [www.msu.ru](http://www.msu.ru)