

Федеральное государственное
бюджетное учреждение науки
Институт биологии развития
Им. Н.К. Кольцова РАН

(ИБР РАН)

ул. Вавилова, д. 26, Москва, 119334
Тел. 8 (499)-135-33-22 Факс 8 (499)-135-80-12

E-mail: idbras@bk.ru

<http://idbras.comcor.ru/>

ОКПО 02699062, ОГРН 1027700450800

ИНН/КПП 7736044850/773601001

№ _____
На № _____ от _____

О Т З Ы В

официального оппонента на диссертацию Никитина Евгения Сергеевича

«Пространственная организация нервной клетки как основа клеточных и сетевых механизмов пластичности», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01. – Физиология

Актуальность работы Е.С. Никитина определяется прежде всего применением оптической регистрации нейрональной активности, одного из самых современных и еще практически неиспользуемого в отечественной науке метода. Этот метод позволяет решать целый ряд актуальных проблем, недоступных для других экспериментальных подходов. К ним относятся и те фундаментальные вопросы, которым посвящена диссертация: локализация пластических изменений в отдельном нейроне на ультраструктурном уровне и точной временной шкале; особенности коллективной работы нейрональных ансамблей, состоящих из большого числа нейронов; соотнесение активности индивидуального идентифицированного нейрона известной функции с влиянием коллективной нейрональной работы, результирующей в осцилляциях мембранного потенциала целого отдела нервной системы. Чрезвычайно актуален и синтез оптической регистрации с другими электрофизиологическими, поведенческими и молекулярно-биологическими подходами, продемонстрированный в этом исследовании.

Новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций.

Автором разработаны уникальные подходы к применению оптической регистрации нейрональной активности на ультраструктурном уровне, ансамблевым, в

связи с поведением и в синтезе с другими электрофизиологическими и молекулярно-биологическими методиками для нервных систем модельных беспозвоночных и млекопитающих. Впервые продемонстрировано участие постоянного натриевого тока в механизме сохранения долговременного следа ассоциативного обучения в виде постоянной деполяризации сомы в отдельном нейроне. Кроме того, выявлена компарментализованность вызванных соматической деполяризацией изменений на уровне разных отростков нейрона и показано влияние этих изменений на выходные сигналы по разным ветвям нейрона. Продемонстрирована зависимость ответа идентифицированного нейрона моллюска, управляющего движением, на сенсорный стимул от суммарной результирующей активности нейронального ансамбля, формирующего процерубрум (ольфакторный отдел центральной нервной системы моллюска, по многим характеристикам близкий к мозгу млекопитающих). Получены новые данные о характере коллективных взаимодействий в большой группе нейронов, модулирующей защитное поведение моллюска. Выводы основаны на полученных результатах, новы и являются существенным дополнением к пониманию механизмов пластичности и поведения на современном уровне.

Научно-практическая значимость результатов диссертации.

Разработанные инновационные подходы оптической регистрации нейрональной активности могут применяться в дальнейших исследованиях для изучения мозга беспозвоночных и млекопитающих как на системном так и на ультраструктурном уровне. Результаты работы могут быть использованы в образовательных курсах по нейробиологии и нейрофизиологии. Совокупность представленных данных о клеточных механизмах обучения и поведении может найти применение при конструировании нейрокибернетических систем и компьютерных моделей мозга.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, содержащихся в диссертации

Результаты статистически обоснованы и хорошо проиллюстрированы большим количеством рисунков и графиков. Качество измерений в экспериментальных группах соответствует общепринятым критериям и определяет высокую достоверность полученных данных. Результаты корректно обсуждены. Общий объем проделанной работы позволяет с уверенностью относиться к сделанным Автором выводам.

Структура и содержание диссертации. Диссертационная работа Е. С. Никитина занимает 284 страницы. Структура текста стандартная. За «Оглавлением» следует «Общая характеристика работы», в которой отмечена актуальность, новизна и поставлены цели исследования. «Обзор литературы» состоит из 3 разделов, каждый из которых содержит информацию, необходимую для понимания актуальности проведенных автором исследований. Особенно хочется отметить 3 главу обзора, посвященную методическим аспектам оптической регистрации электрической активности нейронов ЦНС. Эта глава представляет собой замечательное и уникальное методическое пособие, которое можно настоятельно рекомендовать для публикации.

Затем следует подробное, хорошо иллюстрированное описание методов исследования.

Полученные результаты, соответствующее им обсуждение и частные выводы из каждой серии экспериментов последовательно изложены в четырех главах. Следует отметить высокий уровень языка и логичности этого изложения.

Первая глава посвящена наиболее выдающимся достижениям автора, изучению и описанию механизмов ассоциативного обучения и долговременного следа на уровне отдельного нейрона и его компартментов. Эти результаты получили большое признание в отечественной и мировой науке и опубликованы в высоко-рейтинговых журналах.

Во второй главе описаны результаты уникальных экспериментов по изучению взаимодействия осцилляторной нейросетевой активности с отдельным нейроном при обонятельном обучении. Показано, что осцилляции в обонятельном мозге при предъявлении запахов ритмически тормозят активность мотонейрона ретрактора щупальца, осуществляя центральный контроль длины щупальца и области сканирования в зависимости от предыдущего опыта животного.

Третья глава посвящена анализу межнейронных взаимоотношений в больших функциональных ансамблях нейронов на примере pedalной группы серотониновых нейронов виноградной улитки и буккальных нейронов крылоного моллюска морского ангела, участвующих в механизме подкрепления при оборонительном обучении и в генерации пищевой моторной программы, соответственно.

Наконец, четвертая глава, показывает возможность применения нового разработанного автором в коллективе с другими сотрудниками метода доставки оптических лигандов для изучения пластичности и памяти в мозге позвоночных животных.

Таким образом, на всех экспериментальных моделях разного уровня организации показана перспективность оптических подходов к изучению работы мозга и получены новые результаты, имеющие фундаментальное значение.

Завершается диссертация обоснованными и принципиальными с научной точки зрения выводами.

В «Списке используемой литературы» 341 источник.

Автореферат правильно отражает содержание диссертации. Результаты диссертации Е.С. Никитина опубликованы в международных журналах с высоким индексом цитирования, доложены на многочисленных международных профильных научных конференциях.

Соответствие специальности. Диссертация посвящена фундаментальным аспектам нейрофизиологии – изучению механизмов пластичности, элементарным клеточным механизмам поведения. Диссертационная работа Е.С. Никитина соответствует п. 2 (Анализ механизмов нервной и гуморальной регуляции, генетических, молекулярных, биохимических процессов, определяющих динамику и взаимодействие физиологических функций) паспорта специальности 03.03.01 (физиология).

Замечания. Серьезных замечаний к работе у меня нет, однако определенные вопросы и пожелания существуют.

1. В обсуждении механизмов исследованного ассоциативного обучения не хватает гипотезы о том, как достигается специфичность ответа на условный сигнал. Автор утверждает, «что соматическая деполяризация CGC достаточна для того, чтобы условный ответ мог быть вызван соответствующим адекватным внешним стимулом» (стр 104). Однако соответствие и адекватность стимула нигде не показаны: не проверено действие других стимулов. Вряд ли стоит говорить и об «условном ответе» у НАИВНЫХ животных, лучше назвать его просто пищевой активностью. На самом деле, понятно, что деполяризация CGC у наивных животных не может привести к избирательному усилению ответа на какой-то стимул, скорее всего мы получим повышение вероятности ответа практически на любой нейтральный ольфакторный сигнал. В этом смысле, очевидно, что деполяризация CGC все же не идентична тому, что происходит в реальном обучении, и является только частью этого механизма.

2. Не достаточно четко обсуждена роль цАМФ в исследуемом механизме обучения (1 глава результатов). С одной стороны, автор подчеркивает, что постоянный натриевый ток является единственным изменением свойств мембраны, которое наблюдается после

обучения. Предполагается, что повышение цАМФ может служить пусковым механизмом в активации этого тока. Но при этом спектр эффектов цАМФ на нейроны GCG значительно шире, вплоть до генерации пачек потенциалов (стр. 135 и 139). Действует ли цАМФ в более низких концентрациях в реальном поведении, или ее эффекты разнесены во времени и пространстве? Предположения или ответы автора на эти вопросы остались не выясненными.

3. Несколько удивляет, что на статьи в отечественных журналах, в которых публикуется и сам автор, приведено всего 4 ссылки, хотя работ на русском языке, относящихся к теме диссертации достаточно много.

4. В диссертации и автореферате встречаются стилистически неудачные выражения. Например, стр. 7 диссертации 2 абзац, тоже на стр. 3 автореферата: «точка зрения уделяет внимание» (точка зрения на это неспособна); стр. 81 диссертации: «соматическая деполяризация запускает интернейроны». Есть небольшое количество опечаток и пропуски слов: стр. 99, 3 строка снизу; стр. 125, 1 строка; стр. 89, 11 строка снизу нужно буккальные, а не церебральные, и т.д.

5. Работу могло бы существенно украсить обсуждение и соотнесение полученных результатов с теориями и дискуссиями о работе нервной системы, появившимся в последнее время. Например, нейроэкономическими идеями, принятием решения, а также:

Friston. K. The free-energy principle: a unified brain theory? Nature Reviews Neuroscience | 2010; doi:10.1038/nrn2787; Hawkins J. On intelligence. 2006; Сахаров Д. А.

Биологический субстрат генерации поведенческих актов. Жур. Общ. Биол. 2012 . 334–348; Балабан и др., (2013) Центральные генераторы паттерна (CPGs): круглый стол 2012. Журн.вышш.нерв.деят. Т. 63, С. 520–541; Bargmann CI. Beyond the connectome: how neuromodulators shape neural circuits. Bioessays. 2012 . 458-65. doi: 10.1002/bies.201100185 и др.

Все обсуждается в традиционной общепринятой парадигме, сформировавшейся еще в 70-80-е годы, и этот контраст между инновационностью метода и традиционностью теоретического подхода обращает на себя внимание.

Сделанные замечания, однако, не снижают общей ценности этой высокопрофессиональной работы и ее значимых научных достижений.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов

диссертационной работы. Результаты и выводы диссертации *Е. С. Никитина* могут быть использованы в научно-исследовательской работе Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Института физиологии им. И.П.Павлова РАН, Казанского физико-технического института КазНЦ РАН, Института нормальной физиологии им. П.К.Анохина РАМН, Научного Центра неврологии РАМН, на биологическом и психологическом факультетах Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова, биологическом факультете Санкт-Петербургского государственного университета, Институте биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН.

Научные коллективы, которым следует продолжить или развить научное направление диссертации. Это исследовательские коллективы в Институте физиологии им. И.П.Павлова РАН (рук. Л.Н.Гринкевич), Казанском физико-техническом институте КазНЦ РАН (рук. Х.Л.Гайнутдинов), Институте нормальной физиологии им. П.К.Анохина РАМН (рук. В.П.Никитин), Институте биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН (рук. И.С. Захаров).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Отмечая актуальность, новизну, научно-практическую значимость и высокий методический уровень, можно сделать следующее заключение. Диссертация *Е. С. Никитина* соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» Высшей аттестационной комиссии Министерства образования и науки Российской Федерации к докторским диссертациям, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 N 842 "О порядке присуждения ученых степеней", а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности «физиология» (03.03.01).

Доктор биологических наук,

Ведущий научный сотрудник

Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

В.Е. Дьяконова

ПОДПИСЬ
ЗАВЕРЯЮ
УЧ. СЕКРЕТАРЬ ИБР РАН
03.06.2015