

## **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

на диссертационную работу Ивановой Виолетты Олеговны «Сравнительные электрофизиологические характеристики синаптических ответов на апикальных и базальных дендритах пирамидных нейронов гиппокампа», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук в специализированный диссертационный совет 24.1.046.01 при Институте высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН по адресу: 117485, Москва, ул. Бутлерова 5А, по специальности 1.5.5 – «Физиология человека и животных».

### **Актуальность избранной темы**

Виолетта Олеговна в качестве темы своей кандидатской диссертации выбрала сравнительный анализ характеристик возбуждающей синаптической передачи в синапсах, локализованных на апикальных и базальных дендритах пирамидных нейронов гиппокампа. Апикальные дендриты получают синаптические входы, приходящие из СА2, СА3 полей гиппокампа и энторинальной коры, тогда как большинство возбуждающих синапсов на базальных отростках образовано коллатеральными аксонами СА3 пирамидных нейронов. Однако, "дефицит разнообразия" синаптических входов в stratum oriens компенсируется тем, что у 30% пирамидных нейронов поля СА1 аксоны отходят от базальных дендритов, что ставит эти клетки в "привилегированное" положение, позволяя генерировать потенциалы действия во время выраженного перисоматического торможения. Таким образом, апикальные и базальные дендриты СА1 пирамидных нейронов выполняют разные функции в интеграции и обработки синаптического возбуждения, а данное исследование является важным шагом к пониманию механизмов обработки информации в гиппокампе в целом.

### **Научная новизна**

В настоящей работе с помощью электрофизиологических методов впервые был проведен сравнительный анализ функциональной экспрессии кальций-проницаемых АМПА рецепторов на апикальных и базальных дендритах СА1 пирамидных нейронов; оценен вклад полиамин-зависимой фасилитации в кратковременную синаптическую пластичность в двух пространственно и функционально разделенных отделах пирамидных нейронов; продемонстрировано влияние оксида азота на вклад кальций-проницаемых АМПА рецепторов в синаптические ответы и в поддержании долговременной потенциации в синапсах на апикальных дендритах. Кроме того, Виолетта Олеговна провела ряд поведенческих экспериментов,

позволяющих связать наблюдаемые в переживающих срезах эффекты оксида азота и блокаторов его синтеза на синаптическую передачу с поведенческими реакциями животного.

### **Степень обоснованности и достоверность научных положений, выводов, сформулированных в диссертации**

Научные положения и выводы, сформулированные в диссертационной работе, представленной Виолеттой Олеговной, обосновываются корректной постановкой цели и задач исследования и применением современных и адекватных методов их решения, а также анализом широкого круга литературных источников, содержащих исследования по рассматриваемой проблеме. Достоверность выводов подтверждается хорошо продуманной научной аргументацией.

Результаты диссертации опубликованы в зарубежных журналах European Journal of Neuroscience, International Journal of Molecular Sciences и Frontiers in Synaptic Neuroscience.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Представленные к защите диссертация и автореферат Ивановой Виолетты Олеговны представляют теоретическую и практическую ценность, а автор показала себя способным и профессионально состоявшимся научным исследователем. Полученные данные вносят вклад в теоретическое понимание о распределении кальций-проницаемых АМПА рецепторов в отростках пирамидных нейронов поля CA1 гиппокампа, а также в понимание роли оксида азота в формировании синаптических характеристик на этих отростках.

Практическая значимость обусловлена возможностью применения полученных данных в исследовании патогенеза заболеваний, в механизмы которых вовлечены оксид азота и кальций-проницаемые АМПА рецепторы.

### **Общая характеристика работы**

Диссертация изложена на 115 страницах, включает 25 рисунков. Работа состоит из введения, трех глав литературного обзора, описания материалов и методов исследования, результатов, обсуждения, заключения, выводов и списка цитируемой литературы. Список литературы включает 279 источников, в том числе 1 отечественный и 278 зарубежных.

Во введении автор указывает на актуальность проблемы, степень ее разработанности, определяет цели и задачи исследования, формулирует новизну и практическую ценность работы. Литературный обзор полноценно

охватывает тематики, затронутые в данной диссертационной работе, а именно: описаны нейронные схемы, в которые вовлечены апикальные и базальные дендриты пирамидных нейронов поля CA1 гиппокампа, рассмотрены функции АМПА рецепторов и оксида азота.

*Методы.* Методы работы подробно и ясно описаны. Электрофизиологические эксперименты были выполнены на переживающих срезах гиппокампа мышей возрастом 25-35 дней. Большинство экспериментов выполнено с использованием методики патч-кламп "целая клетка" в режиме фиксации потенциала, что полностью адекватно поставленным задачам. Для изучения влияния блокаторов синтеза оксида азота на долговременную потенциацию использовался метод внеклеточной регистрации изменений локального полевого потенциала. Выбор данного подхода логичен, так как позволяет избежать изменения нативной концентрации полиаминов, неизбежной во время длительного диализа клетки при экспериментах в конфигурации "целя клетка". В диссертации не указано проводился ли анализ гендерных зависимостей наблюдаемых эффектов. Однако, отсутствие данной информации ни в коей мере не умаляет качества представленной работы.

#### *Результаты исследования.*

В результатах работы автор сначала описывает эксперименты, нацеленные на выявление вклада кальций-проницаемых АМПА рецепторов в постсинаптические ответы в возбуждающих синапсах на апикальных и базальных дендритах. Виолетта Олеговна различными способами показывает, что кальций-проницаемые АМПА рецепторы вносят достоверно большой вклад в постсинаптические токи, регистрируемые при стимуляции входов на апикальные дендриты. Далее автор приводит результаты экспериментов по изучению влияния ингибирования NO-синтазы на вклад кальций-проницаемых АМПА рецепторов в амплитуды постсинаптических ответов в синапсах, расположенных на апикальных и базальных дендритах, соответственно. В работе показано, что блокада NO-синтазы селективно снижала фармакологически детектируемый вклад кальций-проницаемых АМПА рецепторов в постсинаптические токи, вызванные стимуляцией апикальных входов в CA1 пирамидные нейроны. Было бы интересно узнать, как менялась кинетика и амплитуда ВПСТ во время намывки и инкубации L-NAME.

В параграфе 4.3 Виолетта Олеговна демонстрирует результаты экспериментов по изучению влияния блокаторов NO-синтазы на динамику долговременной потенциации в синапсах на апикальных и базальных

дендритах. Представленные в диссертации данные показывают, что блокада синтеза оксида азота приводит к утрате способности поддерживать уровень ДВП в синапсах, расположенных на апикальных дендритах. Данное наблюдение хорошо согласуется с представлением о роли кальций-проницаемых АМПА рецепторов в целом, и GluA1 субъединицы в частности в индукции и поддержании ДВП в синапсах, сформированных коллатеральными Шаффера. Однако, в синаптических контактах, расположенных на базальных дендритах блокада NO-синтазы не влияла на позднюю фазу ДВП, что предполагает другой механизм индукции и поддержания потенциации в этих синапсах. При этом блокада синтеза оксида азота влияло на раннюю постиндукционную потенциацию и парные отношения синаптических ответов зарегистрированных при стимуляции базальных входов на CA1 пирамидные клетки. Последнее может указывать на роль оксида азота в поддержании пресинаптического кальциевого гомеостаза и/или размера пула синаптических везикул в терминалях CA3 нейронов, расположенных в stratum oriens. Несмотря на то, что исследование данного феномена находится за пределами задач, поставленных диссертантом, выше упомянутые эффекты оксида азота представляют большой научный интерес и могут послужить основой для дальнейших исследований.

Далее в работе показаны результаты поведенческих экспериментов, демонстрирующие, что одновременная блокада синтеза белка и синтеза оксида азота, предотвращает нарушение памяти, вызванное только блокадой синтеза белка. Было бы интересно сопоставить эти данные с результатами, полученными GluA1-ко мышах или с экспериментами, в которых одновременно фармакологически блокируется вклад кальций-проницаемых АМПА рецепторов.

*Обсуждение и заключение.* В обсуждении автор подробно описывает полученные результаты, рассуждает по поводу противоречивых результатов (например, связанные с ростом амплитуд ВПСТ при вымывании полиаминов под блокадой синтеза оксида азота) и приводит возможные механизмы, которые могли бы лежать в основе полученных данных.

### **Заключение по диссертационной работе**

Таким образом, диссертационная работа Ивановой Виолетты Олеговны «Сравнительные электрофизиологические характеристики синаптических ответов на апикальных и базальных дендритах пирамидных нейронов гиппокампа» по своему объему, структуре, актуальности и новизне, практической значимости, уровню решения поставленных задач и

сформулированных положений соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335) предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 – «Физиология человека и животных».

**Официальный оппонент по диссертации:**

заведующий лабораторией электрофизиологии

ФГБУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий»

Федерального медико-биологического агентства России

кандидат наук (Doctor scientiarum humanarum)



Розов А.В.

Почтовый адрес: 117513, Москва, улица Островитянова, 1, стр. 10,

телефон: +7 986 719 0112, email: rozov1511@gmail.com

Подпись Розова А.В.  
заверяю  
Ученый секретарь ФГБУ "ФЦМН"  
ФМБА РОССИИ  
К.М.Н.

