

УТВЕРЖДАЮ

Проректор

МГУ имени М.В.Ломоносова

А.А.Федянин



07.04 2023 года

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу Симоновой Натальи Александровны
«Особенности формирования гетеросинаптической пластичности в
нейронах неокортекса и гиппокампа», представленной на соискание
ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 –
«Физиология человека и животных» (биологические науки).

Основным содержанием работы Н.А. Симоновой было исследование генерализованной неассоциативной пластичности синапсов коры и зубчатой фации гиппокампа, вызванной тетанизацией постсинаптического нейрона пачками внутриклеточных импульсов, а также гетеросинаптической ассоциативной пластичности путем стимуляции «дальних» и «ближних» входов клетки. Экспериментальный раздел работы состоит из трех частей: анализ пластичности синаптических входов в зависимости от их локализации на апикальном дендрите пирамидного нейрона 2/3 слоя неокортекса крыс; анализ пластичности синаптических связей между пирамидными нейронами 2/3 и 5 слоев неокортека с использованием метода оптогенетической стимуляции нейронов 2/3 слоя; анализ пластичности ГАМК-ергических синаптических входов в новообразованных и зрелых нейронах зубчатой фации гиппокампа крыс.

Актуальность темы исследования. Синаптическая пластичность является одной из необходимых составляющих механизмов обучения и памяти на уровне как отдельных клеток, так и нейронных микросетей, а её долговременные потенция и депрессия являются ключевыми для

долговременные потенция и депрессия являются ключевыми для формирования следов памяти в мозге. Изменение эффективности синаптической передачи в неактивном синапсе в результате активности соседних синапсов или постсинаптического нейрона называется гетеросинаптической пластичностью. Предполагается, что гетеросинаптическая пластичность является одной из форм синаптической пластичности, предотвращающих возникновение дисбаланса связей в нейрональной сети.

Научная новизна исследования. В данной работе впервые раскрыты ранее неизвестные закономерности формирования гетеросинаптической пластичности в синапсах неокортекса и зубчатой фации гиппокампа. В частности, впервые было продемонстрировано, что синапсы, расположенные ближе к телу пирамидного нейрона 2/3 слоя более склонны к гетеросинаптической потенциации по сравнению с входами, приходящими на дистальные дендриты клетки.

Кроме того, впервые выявлена разница в неассоциативной пластичности зрелых и незрелых гранулярных клеток: для незрелых клеток была более характерна неассоциативная потенция, тогда как в зрелых клетках наблюдались оба типа пластических изменений, а свойства неассоциативной пластичности изменяются при созревании новообразованных гранулярных клеток. Все наблюдавшиеся автором паттерны проявления гетеросинаптической пластичности свидетельствуют в пользу концепции о ее важной роли в стабилизации активности нейронной сети, наряду с долговременной гомосинаптической пластичностью, работающей в тех же временных рамках.

Во Введении (с. 4-8) даётся достаточно полное представление о поставленных задачах и полученных автором результатах, сформулированы основные положения, выносимые на защиту. Четыре следующих главы представляют обзор литературы (глава 1, стр. 9-40), использованные методы и материалы (глава 2, стр. 41-56), полученные результаты (глава 3, стр. 57-89) и их обсуждение (глава 4, стр. 90-99). Заключение (стр. 100-102) и выводы (стр. 103-104) подводят итог проделанной работы.

В обзоре литературы, состоящем из 164 источников (27 работ за последние 5 лет, 2018–2022), подробно проанализированы содержание и результаты исследований, проводимых в данном направлении, – феноменология, клеточные и молекулярные механизмы и нейрогенез разных форм синаптической пластичности.

Вторая глава (Материалы и методы) содержит очень подробное описание методики - объектов исследования, операции по введению плазмиды в мозг эмбрионов (*in utero* электропорация), приготовления переживающих срезов головного мозга, экспериментальной установки для исследования нейронов методом patch-clamp, протоколов экспериментов и применявшихся препаратов.

В третьей главе, состоящей из трех разделов, представлены результаты проведенных автором исследований.

В первом разделе представлены результаты изучения изменений синаптических ответов нейронов 2/3 слоя в зависимости от удаленности тестируемых синапсов от тела клетки после тетанизации через стимулирующий электрод, расположенный в теле клетки. При стимуляции дистальных входов (n=17) долговременная депрессия наблюдалась в 41,2% случаев, потенциация наблюдалась в 35,3% случаев. В остальных случаях достоверных пластических изменений выявлено не было (23,5% входов).

При стимуляции проксимальных входов (n=11) преобладающим типом пластичности оказалась долговременная потенциация (81,8% входов), депрессия не наблюдалась, в остальных случаях достоверных пластических изменений выявлено не было (18,2% входов).

При сравнении посттетанической и ассоциативной пластичности (вызванной сочетанием пре- и постсинаптической стимуляции) в сходных условиях оказалось, что гомосинаптическая пластичность в форме потенциации успешно вызывалась примерно в 80% случаев как в «ближних», так и в «дальних» входах.

Во втором разделе представлены данные о пластичности синаптических ответов пирамидных нейронов пятого слоя коры на оптическую стимуляцию каналородопсин2-экспрессирующих нейронов 2/3 слоя в результате внутриклеточной тетанизации постсинаптического нейрона. В этих условиях также, хотя и в меньшем проценте случаев, после постсинаптической тетанической стимуляции наблюдалась потенциация (9%) и депрессия (21%) синаптических ответов.

В третьем разделе изучалась пластичность синапсов зрелых и незрелых гранулярных клеток зубчатой фасции гиппокампа. Синаптические ответы, вызванные как в зрелых, так и в незрелых гранулярных клетках локальной стимуляцией, были в основном ГАМК-ергическими, с незначительным или отсутствующим вкладом других медиаторов.

В зрелых и незрелых гранулярных клетках внутриклеточная тетанизация индуцировала двунаправленную пластичность с потенциацией и депрессией, причем в зрелых клетках в более чем половине случаев была зарегистрирована депрессия, а в незрелых потенциация.

Работу завершают Обсуждение (4 глава), Заключение и Выводы.

В Обсуждении автор, в частности, рассматривает возможную роль повышения внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} под влиянием обратного распространения потенциалов действия, вызванных внутриклеточной тетанизацией, вдоль апикального дендрита, что и является запускающим фактором для развития гетеросинаптических изменений. Тогда можно ожидать, что при более низкой концентрации ионов Ca^{2+} в дистальной части дендрита будет развиваться преимущественно синаптическая депрессия, а при более высокой концентрации вблизи тела клетки – потенциация.

Основной вопрос к работе – в чем физиологический смысл неассоциативной синаптической пластичности, вызванной постсинаптической тетанизацией? Неассоциативные изменения синаптической эффективности под влиянием неконтингентной по отношению к синаптическим входам постсинаптической активности в естественных

условиях должны бы привести к полной синаптической неразберихе. Возможно, этот эффект как-то ассоциируется с механизмом действия электросудорожной терапии - в недавнем «золотого стандарта» в купировании большого депрессивного расстройства. Изменения синаптической эффективности под влиянием постсинаптической тетанизации, неконтингентной с пресинаптической активностью могут иметь отношение к эффекту «псевдообусловливания» - ухудшению выработки условного рефлекса при добавлении безусловного стимула в межстимульные интервалы между сочетаниями.

В разделе Методика автор пишет, что «после установления конфигурации целая клетка существует критическое временное окно (порядка 15 минут), в течение которого возможно вызвать пластические изменения путем внутриклеточной тетанизации нейрона». Значит, состояние среза существенно и быстро менялось. Однако в работе отсутствуют контрольные данные, которые показывали бы степень стабильности ответов на пресинаптическую стимуляцию в таком же временном интервале без тетанизации.

При полностью положительном впечатлении о выполненном исследовании в целом к работе есть ряд вопросов и замечаний.

В тексте диссертации нам не удалось найти ответа, как вычислялись коэффициент парной стимуляции (КПС) и обратный коэффициент вариации (CV). В тексте автореферата говорится, что «КПС представляет собой отношение амплитуды первого ВПСП к амплитуде второго при стимуляции следующими друг за другом с небольшим интервалом стимулами и обратно пропорционален вероятности выброса медиатора в данном синапсе». Но, например, в работе: [Manita et al. "Paired-pulse ratio of synaptically induced transporter currents at hippocampal CA1 synapses is not related to release probability", *Brain Res.* 2007] говорится, что "Paired-pulse ratio (PPR) which is the ratio of the amplitude of the second response to that of the first, depends on the probability of vesicular release at the synapse... When the transmitter release was

enhanced by raising Ca^{2+} concentration in the bathing medium..., the PPR of the neuronal AMPA-EPSCs decreased significantly... The PPR of AMPA-EPSCs... recovered by lowering the stimulus intensity or by applying low concentration of NBQX, a competitive antagonist for AMPA-receptor.”

В тексте диссертации автор говорит о пресинаптической стимуляции на разных уровнях апикального дендрита, а на рис.3 (рис. 1Б в автореферате) проксимальный вход адресован к базальному дендриту.

В тексте встречаются такие выражения, как «корреляция наблюдалась..., однако, она не была статистически достоверна», «наблюдалась тенденция к отрицательной корреляция изменения КПС и изменения амплитуды ответа клетки после индукции пластичности, более слабая чем для CV-2 и не достигающая уровня значимости». Такие выражения не имеют смысла.

Подводя общий итог, можно заключить, что сделанные замечания носят характер обсуждения, либо терминологический и уточняющий характер и не влияют на общую положительную оценку работы.

Обоснованность и достоверность научных положений, результатов и выводов

Все статистические вычисления 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.

Результаты, полученные в диссертационной работе Симоновой Натальи Александровны, следует использовать в фундаментальных исследованиях подразделений нейрофизиологического профиля научных учреждений РАН, в лекционных курсах по нейрофизиологии в МГУ имени М.В. Ломоносова,

Санкт-Петербургском и Новосибирском университетах, а также при написании научных работ и учебных пособий по механизмам пластичности в нейронах неокортекса и гиппокампа.

В заключение мы приходим к выводу, что Симоновой Натальей Александровной представлена содержательная, интересная и перспективная работа, автор которой без сомнения достоин учёной степени кандидата биологических наук.

Таким образом, диссертация Симоновой Натальи Александровны на тему «Особенности формирования гетеросинаптической пластичности в нейронах неокортекса и гиппокампа» является научно-квалификационной работой, в которой раскрыты особенности и закономерности формирования гетеросинаптической пластичности на нейронах неокортекса и гиппокампа.

Данная работа расширяет теоретические представления о функционировании нейронных сетей головного мозга, а также имеет важное значение для адекватного моделирования нервной системы с целью создания искусственных нейронных сетей. Содержание работы и полученные результаты соответствуют требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Симонова Наталья Александровна, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 – «Физиология человека и животных» (биологические науки).

Отзыв составлен кандидатом биологических наук, ведущим научным сотрудником кафедры высшей нервной деятельности биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова В.И. Майоровым, рассмотрен и утвержден на заседании кафедры высшей нервной деятельности

биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, протокол №4 от «6» апреля 2023 г.

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