



**ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО
НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ**

**Федеральное государственное
бюджетное учреждение науки
Институт теоретической и
экспериментальной биофизики
Российской академии наук
(ИТЭБ РАН)**

142290 Пушкино Московской области,
ул. Институтская, 3
Тел. (495) 632-78-69 Факс (4967) 33-05-53
E-mail: office@iteb.ru
ОКПО 00454592, ОГРН 1025007770920
ИНН/КПП 5039002070/503901001

«УТВЕРЖДАЮ»

Вр. и. о. Директора Федерального
государственного бюджетного учреждения
науки «Институт теоретической и
экспериментальной биофизики Российской
академии наук»
чл.-корр. РАН Г.Р. Иваницкий/



16.03.15 № 12308 /2171-02

На № _____ от _____

О Т З Ы В

ведущей организации на диссертационную работу

Поварова Игоря Сергеевича

«Пептидэргическая модуляция синаптической передачи в гиппокампе»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.03.06 – Нейробиология

Актуальность диссертационной работы

Диссертация Игоря Сергеевича Поварова посвящена исследованию влияния пептидных ноотропных препаратов на функционирование гиппокампа, что является одной из важных задач современной нейрофизиологии. Эта область мозга ответственна за многие когнитивные процессы, такие, как внимание, обучение и память. У человека гиппокамп вовлечен также в ряд патологических процессов, наблюдаемых при повышенной тревожности, стрессах, шизофрении, болезни Альцгеймера, когда нарушаются когнитивные и эмоциональные функции. В связи с нарастающим ростом патологии мнестических процессов в последнее время наблюдается повышение интереса к изучению возможностей пептидэргической коррекции нарушений обучения и памяти. Однако в литературе практически отсутствуют сведения механизмах действия соединений данного класса на уровне нейронных сетей и отдельных клеток, в частности, гиппокампа. Диссертационная

работа Игоря Сергеевича Поварова вносит существенный вклад в понимание таких механизмов; отсюда очевидна актуальность проделанной работы.

Основные научные результаты

Исследование осуществлялось на переживающих срезах гиппокампа крыс породы Wistar в возрасте 14-17 дней. Работа проведена на высоком методическом уровне, не уступающем уровню исследований, проводимых *in vitro* в ведущих лабораториях мира. Исследовалась активность как пирамидных клеток (регистрация тормозных постсинаптических ионных токов, ТПСТ), так и интернейронов (регистрация спайковой активности), при визуализации их под микроскопом. Снятие электрофизиологических показателей производилось методом patch clamp. Необходимо отметить, что отведение активности интернейронов является довольно трудоёмкой процедурой вследствие их малого размера и уязвимости. Осуществление такой регистрации (пусть даже единичных клеток), как и применение самого метода patch clamp в различных модификациях (whole-cell, voltage clamp, current clamp) свидетельствует о высокой квалификации диссертанта как экспериментатора.

Основные и наиболее интересные данные получены относительно влияний пептидного ноотропного препарата «Ноопепт» на активность нейронов и синаптическую передачу в гиппокампе. В работе обнаружено, что Ноопепт усиливает спонтанную тормозную активность в пирамидных нейронах поля CA1 гиппокампа (увеличивая амплитуду ТПСТ), а также повышает частоту разрядов тормозных интернейронов. При этом Ноопепт не оказывал влияния на свойства волокон и синаптических терминалей интернейронов, а изменял лишь частоту спайков. Влияния Ноопепта на активность пирамидных и тормозных клеток имели близкий временной ход. Эти данные, наряду с более детальными характеристиками активности клеток, полученными автором, свидетельствуют, что первичной мишенью действия пептида являются интернейроны. Анализируя характер регистрируемых в пирамидных клетках ТПСТ, которые отличались быстрой кинетикой нарастания и спада, автор приходит к выводу, что подавляющее большинство зарегистрированных ТПСТ относятся к быстрым перисоматически генерируемым тормозным токам. Проявившееся на пирамидных нейронах действие Ноопепта, как справедливо считает диссертант, очевидно обусловлено разрядами популяций одного из многих типов интернейронов гиппокампа, а именно, корзинчатых интернейронов (более точное заключение могло быть сделано только при параллельном отведении пирамидных клеток и контактирующих с ними интернейронов, что, возможно, будет осуществлено автором в будущих исследованиях).

Другой важный результат, полученный в работе, заключается в том, что стимуляция

коллатералей Шафера вызывала в пирамидных клетках поля СА1 гиппокампа двухкомпонентный ответ, состоящий из тормозной и активационной составляющей. Аппликация Ноопепта в различных концентрациях (2, 4, 6 мкМ) приводила к дозозависимому снижению амплитуды суммарного ответа и изменению кинетики его фазы спада. Автор, детально анализируя полученные результаты и литературные данные, приходит к выводу, что Ноопепт модулирует суммарный ответ путем увеличения амплитуды его тормозной составляющей, в генерации которой в основном участвуют высокочастотные быстроразряжающиеся корзинчатые интернейроны.

Интересно, что Ноопепт не оказывал влияния на глутаматергические механизмы, поскольку в условиях блокады тормозной передачи он не воздействовал ни на спонтанную, ни на вызванную возбуждающую передачу.

В диссертационной работе на основе глубокого анализа полученных и литературных данных делаются интересные предположения о том, что усиление спонтанного и вызванного торможения пирамидных нейронов поля СА1 гиппокампа Ноопептом соответствует его анксиолитическому действию на организм; в то же время мнемотропный эффект может быть опосредован вторичным торможением тормозных интернейронов в синаптических сетях гиппокампа.

Важные данные получены и относительно влияния других пептидных ноотропных препаратов, Селанка и Семакса, на спонтанную тормозную активность пирамидных нейронов гиппокампа. Селанк оказывал сложное действие, выражающееся в наличии фаз спада и возрастания ТПСТ. В отличие от Ноопепта, обладающего выраженной способностью усиливать как спонтанную, так и вызванную тормозную передачу, Селанк не вызывал ярко выраженных и однозначных изменений; однако, как показал автор, действие этого селективного анксиолитика, также как и Ноопепта, было обусловлено торможением спонтанной активности пирамидных нейронов поля СА1 гиппокампа. Для того чтобы сделать такой вывод, автору пришлось проделать сложную работу по оценке прямого (на мембрану пирамидных нейронов) и опосредованного (на иные элементы нейронной сети) эффектов препарата, проверить действие Селанка на возбуждающую систему, оценить изменение физиологических параметров регистрируемых клеток.

В отношении Семакса не было обнаружено каких-либо достоверных эффектов.

Необходимо отметить, что кроме экспериментов диссертант проделал большую теоретическую работу по сбору информации о морфологии и физиологии гиппокампа, а также о структурах, являющихся источниками его афферентов (энторинальной коре и медиальной септальной области). Теоретические части диссертации, как Литературный обзор, так и Обсуждение, заслуживают высокой оценки.

Значение для науки и практики.

Полученные диссертантом данные по влиянию пептидов Ноопепта, Селанка и Семакса на активность гиппокампальных нейронов позволяет более глубоко понять механизмы функционирования гиппокампа, что вносит вклад в фундаментальную науку о мозге. Накопление результатов по действию различных пептидэргических препаратов на пирамидные клетки и интернейроны гиппокампа позволит в дальнейшем провести параллели между конкретными клеточными, с одной стороны, и поведенческими, с другой стороны, особенностями действия ноотропов. Данные, полученные в диссертационной работе, могут быть использованы при чтении лекций в высших учебных заведениях, а также послужить толчком для продолжения исследований в заданном направлении.

В практическом плане проведенное исследование предоставляет сведения, необходимые для получения более селективных (по сравнению с существующими) лекарств, действующих на строго определённые мишени, и не оказывающих побочных влияний на мозг, а также для синтеза препаратов, обладающих мощным и пролонгированным ноотропным и анксиолитическим действием.

Общие замечания.

Каких-либо существенных недостатков в работе не обнаружено, однако хотелось бы сделать некоторые замечания и комментарии. 1) Автором показано, что Ноопепт превращал относительно регулярную во времени генерацию спайков у интернейронов поля CA1 гиппокампа в пачечную ритмическую активность. К сожалению, автор не исследовал природу такой активности, которая может приводить к ритмическому растормаживанию основных, пирамидных клеток гиппокампа. В то же время такое влияние Ноопепта может быть одной из причин его мнемоторного эффекта на поведенческом уровне: известно, что пачечная ритмическая активность в гиппокампе (в частности, тета-ритм), передающаяся к другим структурам как пирамидными клетками, так и интернейронами, и способствующая синхронизации клеточной активности в мозге, рассматривается как нейронный коррелят избирательного внимания (Vinogradova, 1995). В Литературном обзоре диссертант много внимания уделяет механизмам генерации тета-ритма в гиппокампе, однако в Обсуждении этот аспект, к сожалению, затронут лишь поверхностно. 2) В работе использовались нелинейные крысы *породы* Вистар, но пишется, что использовались крысы *линии* Вистар. 3) Некоторые термины и выражения, используемые в диссертации, не вполне стилистически корректны, например, «быстрospайкующие» и «регулярно-спайкующие интернейроны» (это буквальный перевод с английского, корректнее писать «быстроразряжающиеся

интернейроны» и «интернейроны с регулярными разрядами»); в подзаголовках пишется «Действие на интернейроны *дальнего (или ближнего) радиума*» (стр. 88 , 90), хотя в самом тексте дано более корректное объяснение этих названий. 4) Есть некоторые небрежности в оформлении работы, например, на микрофотографиях, демонстрирующих отведение от пирамидных клеток и интернейронов (стр. 72, 79 и 88) не приведён масштаб, который мог бы указывать на сравнительный размер этих клеток. Есть грамматические ошибки/описки (например в терминах «тетта-подобная активность», «тетта-волны», «тетта-ритм» (стр. 32-34); следует писать «тета», что соответствует английскому «theta»).

Однако эти замечания никак не снижают ценности работы, и являются скорее пожеланиями на будущее.

Заключение

Диссертация представляет собой завершённую научно-исследовательскую работу на актуальную тему. Полученные в работе данные существенно пополняют сведения о свойствах нейронов и нервных сетей гиппокампа, а также могут быть использованы для разработки новых подходов при лечении нервных расстройств. Выводы и рекомендации достаточно обоснованы.

Работа соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утверждённого Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842, а её автор заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата наук по специальности 03.03.06 – Нейробиология

Отзыв составлен зав. лаб. Системной организации нейронов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН, д.б.н. В.Ф. Кичигиной, обсужден и одобрен на заседании секции «Межклеточные взаимодействия и нейронаука» 02 марта 2015 г., протокол № 59.

Председатель секции, в.н.с. лаб. Экспериментальной нейробиологии,

д.б.н.

/В.И. Архипов/

Зав. лаб. Системной организации нейронов,

д.б.н.

/В.Ф. Кичигина/

Подписи В.И. Архипова и В.Ф. Кичигиной удостоверяю



СВЕДЕНИЯ О ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

В Диссертационный совет Д 501.001.93 при Биологическом факультете МГУ
им. М.В. Ломоносова
(119991, г. Москва, Воробьевы горы, д.1, стр.12, ауд. М-1)
в аттестационное дело
Поварова Игоря Сергеевича

Полное название ведущей организации	Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук (ИТЭБ РАН)
ФИО, ученая степень, ученое звание руководителя организации	Иваницкий Генрих Романович, член-корреспондент РАН, д.ф-м.н., профессор
ФИО, ученая степень, ученое звание заместителя руководителя организации	Маевский Евгений Ильич, д.м.н., профессор; Годухин Олег Викторович, д.б.н., профессор
ФИО, ученая степень, ученое звание, должность сотрудника, составившего отзыв ведущей организации	Кичигина Валентина Федоровна, д.б.н., зав. лаб.

Адрес ведущей организации

индекс	142290
город	Пушино
улица	Институтская
дом	3
телефон	(495)632-78-69
e-mail	office@iteb.ru
Web-сайт	web.iteb.psn.ru

Ведущая организация подтверждает, что соискатель не является ее сотрудником и не имеет научных работ по теме диссертации, подготовленных на базе ведущей организации или в соавторстве с ее сотрудниками.

Ученый секретарь Института
д.б.н.



/Куликов А.В./

Список работ по нейробиологии, биофизике клеточных мембран сотрудников Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН:

1. V.F. Kitchigina. Theta oscillations and reactivity of hippocampal stratum oriens neurons. *The Scientific World Journal* 2010, 10, 930–943.
2. Шубина Л.В., Кичигина В.Ф. Эндогенная каннабиноидная система мозга: Роль в регуляции судорожной активности. *Успехи физиологических наук*. 2012. Т.43. №3. С. 21-37.
3. Синельникова В.В., Шубина Л.В., Гольтяев М.В., Лосева Е.В., Кичигина В.Ф. Определение c-Fos экспрессии в мозге животных в пилокарпиновой модели височной эпилепсии. *Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова* 2012, 62(4), 497-505.
4. Kitchigina V, Popova I, Sinelnikova V, Malkov A, Astasheva E, Shubina L, Aliev R.
5. Disturbances of septohippocampal theta oscillations in the epileptic brain: Reasons and consequences. *Experimental Neurology*, 2013, 247, 314-327.
6. Savina T.A., Shchipakina T.G., Levin S.G., Godukhin O.V. Interleukin-10 prevents the hypoxia-induced decreases in expressions of AMPA receptor subunit GluA1 and alpha subunit of Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II in hippocampal neurons. *Neuroscience Letters*, 2013, 534, 279-284.
7. Особенности нарушений памяти у крыс после повреждения поля СА3 дорсального гиппокампа каиновой кислотой. *Бюлл. эксперим. биологии и медицины*, 2013, 155(6), 771-775.
8. Савина Т.А., Левин С.Г., Полетаева И.И., Федотова И.Б., Щипакина Т.Г. Аудиогенный киндлинг изменяет субъединичный состав ВК-каналов в зубчатой фасции крыс линии Крушинского-Молодкиной. *Биологические мембраны*, 2013, 30(5-6), 1-6.
9. Tsyganov M.A., Biktashev V. N. Classification of wave regimes in excitable systems with linear cross diffusion. *Phys. Rev. E*, 2014, - 90(062912), 1-14.
10. Tarahovsky Y.S., Kim Y.A., Yagolnik E.A., Muzafarov E.N. Flavonoid-membrane interactions: involvement of flavonoid-metal complexes in raft signaling. *Biochim. Biophys. Acta*, 2014, 1838, 1235-1246
11. Tukhovskaya E.A., Turovsky E.A., Turovskaya M.V., Levin S.G., Murashev A.N., Zinchenko V.P., Godukhin O.V. Anti-inflammatory cytokine interleukin-10 increases resistance to brain ischemia through modulation of ischemia-induced intracellular Ca²⁺ response. *Neuroscience Letters*, 2014, - 571 55-60
12. V. Arkhipov, M. Kapralova, E. Pershina, R. Gordon. Delayed treatments with pharmacological modulators of pre- and postsynaptic mGlu receptors rescue the hippocampus from kainate-induced neurodegeneration. *Neuroscience Letters*, 2014, 570, 5-9.
13. Chuev G.N., Vyalov I., Georgi N. Extraction of site-site bridge functions and effective pair potentials from simulations of polar molecular liquids. *Journal of Computational Chemistry*, 2014, 35(13), 1010-1023.
14. Khechinashvili N.N., Kabanov A.V., Kondratyev M.V., Polozov R.V. The entropic nature of protein thermal stabilization. *Journal of biomolecular structure & Dynamics*, 2014, 32(9), 1396-1405.
15. E. Astasheva, M. Astashev, V. Kitchigina. Changes in the behavior and oscillatory activity in cortical and subcortical brain structures induced by repeated L-glutamate injections to the medial septal area in guinea pigs. *Epilepsy Research*, 2015, 109, 134-145.

Ученый секретарь Института,
д.б.н.



/Куликов А.В./