

**В диссертационный Совет
при Институте эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
(Д 002.127.01)**

«УТВЕРЖДАЮ»



Директор Института биофизики клетки
ФИЦ ИЭФБ РАН
д.б.н. Морейков О.С.

" 6 " мая 2019 г.

О Т З Ы В

ведущей организации на диссертационную работу
Малкина Сергея Львовича

«Роль кальций-проницаемых AMPA-рецепторов в синаптической передаче в коре мозга
крысы в норме и при судорожных состояниях»
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.03.01 – Физиология

Актуальность диссертационной работы

Диссертация Сергея Львовича Малкина посвящена исследованию вклада особого рода глутаматергических AMPA-рецепторов, а именно, Ca²⁺-проницаемых рецепторов, в синаптическую передачу в неокортексе в норме и при судорожных состояниях, что является важной задачей современной нейрофизиологии и патофизиологии. В настоящее время роль Ca²⁺-проницаемых AMPA-рецепторов в функционировании синапсов неокортекса изучена далеко не полностью. Неизвестно, как распределены Ca²⁺-проницаемые и Ca²⁺-непроницаемые AMPA-рецепторы на уровне отдельных синапсов нейронов. Отсутствие этих сведений представляет собой существенный пробел в знаниях в области синаптологии кортикальных структур.

Известно, что при судорожных состояниях и эпилепсии наблюдается увеличение доли Ca²⁺-проницаемых AMPA-рецепторов в синапсах нейронов гиппокампа и неокортекса; это свидетельствует о том, что Ca²⁺-проницаемые AMPA-рецепторы могут быть непосредственно вовлечены в патогенез судорожных состояний. Однако, возможная роль

)

Ca²⁺-проницаемых AMPA-рецепторов в ранних изменениях синапсов при эпилептогенезе остаётся неясной, что затрудняет разработку подходов для фармакотерапии эпилепсии. В то же время около трети пациентов, страдающих височной эпилепсией устойчивы к доступным противосудорожным препаратам.

Одним из перспективных подходов в лечении височной эпилепсии может стать превентивная терапия после эпилептогенного события (травмы, инсульта, сильной интоксикации), направленная на предотвращение развития хронической патологии. Хотя в настоящее время имеются сведения об участии AMPA-рецепторов в ранних стадиях эпилептогенеза, динамика изменений их субъединичного состава и возможная роль Ca²⁺-проницаемых AMPA-рецепторов в развитии патологических изменений настоятельно требует дальнейшего её изучения для разработки новых подходов в лечении височной эпилепсии.

Исходя из всего вышесказанного, актуальность работы, проведенной С.Л. Малкиным, очевидна.

Структура диссертации и степень полноты изложения материала

Диссертация состоит из введения, трёх глав, и заключения. Полный объём диссертации составляет 145 страниц, включая 35 рисунков и 2 таблицы. Список литературы содержит 383 наименования. Обзор литературы достаточно лаконичен, но содержит всю необходимую информацию по исследуемой теме.

Основные научные результаты и их новизна

Диссертационная работа проведена на высоком методическом уровне. Исследование проведено на крысах породы Вистар, при регистрации нейронов методом фиксации токов/потенциалов на целой клетке (patch-clamp) в переживающих срезах неокортекса (префронтальная и энторинальная области), в норме и при судорожной патологии. Идентификация различных типов нейронов неокортекса (префронтальная область) производилась посредством визуализации нейронов (с помощью специальной оптической техники) и по электрофизиологическим параметрам активности под действием деполяризующего или гиперполяризующего тока.

В диссертационной работе исследовались следующие проблемы:

1. Оценивался вклад Ca²⁺-проницаемых AMPA-рецепторов в глутаматергическую синаптическую передачу различных типов нейронов неокортекса (префронтальная область) и исследовались характеристики синаптических ответов нейронов с высоким и низким

содержанием этих рецепторов. Диссертантом обнаружено, что популяция нейронов префронтальной коры крысы гетерогенна по содержанию Ca^{2+} -проницаемых AMPA-рецепторов. Впервые показано, что миниатюрные возбуждающие постсинаптические токи (мВПСТ) в пирамидных клетках неокортекса крыс однородны по своим свойствам, тогда как в быстро-разряжающихся интернейронах они неоднородны, и представлены двумя субпопуляциями, различающимися по амплитуде и кинетике. Показано, что неоднородность популяции мВПСТ в быстроразряжающихся интернейронах связана с неравномерным распределением Ca^{2+} -проницаемых AMPA-рецепторов в их синапсах. Такой результат несомненно заполняет имеющийся на сегодняшний день пробел в знаниях в области синаптологии неокортекса.

2. Оценивались изменения свойств синаптической передачи, возникающие во время вызванной эпилептиформной активности в срезах энторинальной коры. Впервые показано, что Ca^{2+} -проницаемые AMPA-рецепторы встраиваются в синапсы пирамидных клеток энторинальной коры в процессе формирования эпилептиформной активности в острой модели судорожных состояний.

3. На литий-пилокарпиновой модели хронической эпилепсии изучалась динамика изменений характеристик AMPA-опосредованных синаптических ответов и субъединичного состава AMPA-рецепторов в пирамидных клетках неокортекса в латентном периоде развития височной эпилепсии. С.Л. Малкиным впервые продемонстрировано, что кальций-проницаемые AMPA-рецепторы, в норме отсутствующие в пирамидных нейронах неокортекса, встраиваются в их постсинаптические мембраны на третьи сутки после эпилептического статуса.

Значимость для науки

Проведенное С.Л. Малкиным изучение роли одного из типов глутаматных рецепторов, кальций-проницаемых AMPA-рецепторов, в синаптической передаче в неокортексе позволяет лучше понять закономерности нейронных коммуникаций в кортикальных структурах мозга. В частности, получены новые данные о характере распределения миниатюрных возбуждающих постсинаптических токов в интернейронах, которые позволяют пересмотреть представления о величине кванта синаптической передачи. Получены также факты, проливающие свет на природу эпилептогенеза: продемонстрировано изменение субъединичного состава AMPA-рецепторов в пирамидных клетках префронтальной коры после судорог, показано встраивание Ca^{2+} -проницаемых AMPA-рецепторов в синапсы этих нейронов, выявлены критические периоды, в которые оно происходит при развитии эпилепсии. В целом, обнаруженные факты вносят существенный

вклад в представления о механизмах функционирования основных областей мозга, участвующих в его когнитивной деятельности, в норме и судорожной патологии.

Практическое значение

Полученные данные могут быть применены при разработке новых подходов в лечении эпилепсии, направленных на воздействия на глутаматергическую передачу. Временный характер встраивания кальций-проницаемых AMPA-рецепторов при эпилептогенезе, показанный на литий-пилокарпиновой модели, свидетельствует о наличии критических периодов, в которые применение препаратов, воздействующих на данные рецепторы, может быть наиболее эффективно.

Предложения по использованию результатов и выводов диссертации

Результаты и выводы диссертации могут быть использованы в курсах лекций по нейрофизиологии и физиологии человека и животных в высших учебных заведениях. Полученные результаты будут также полезны для проведения дальнейших исследований в ряде профильных институтов РАН, таких, как Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН и Институт мозга человека РАН в Санкт-Петербурге, Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН в Москве. Полученные факты могут быть использованы также при экспериментальном моделировании височной эпилепсии и интерпретации получаемых при этом данных.

Общие замечания

Каких-либо существенных недостатков в диссертации не обнаружено. Однако хотелось бы выразить сожаление по поводу того, что в работе не удалось выявить связи между электрофизиологическим подтипом интернейронов и содержанием кальций-проницаемых AMPA-рецепторов в их синапсах. Диссертант объясняет это тем, что в экспериментах наблюдались большие различия в степени блокады рецепторов под действием селективного блокатора среди интернейронов внутри одной группы. В экспериментах регистрировали ответы только от одного синаптического входа каждого нейрона (хотя в описании методов сказано: «мы стимулировали латеральные внутрикорковые и таламические входы одного и того же интернейрона»). Возможно, это является причиной неудачи в этом аспекте. Однако это замечание никак не снижает ценности работы и являются скорее пожеланием на будущее.

Заключение

Диссертационная работа Малкина Сергея Львовича представляет собой законченную актуальную научно-исследовательскую работу, выполненную на высоком научном уровне с

привлечением современных методов. Обсуждение результатов и выводы согласуются с поставленными целями и задачами работы. Работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, с изменениями постановления правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней», предъявляемым к диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Отзыв составлен зав. лаб. Молекулярной физиологии клетки Института биофизики клетки — обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук (ФИЦ ПНЦБИ РАН)», д.б.н. проф. С.С. Колесниковым, обсужден и одобрен на совместном семинаре лабораторий Молекулярной физиологии клетки и Внутриклеточной сигнализации Института биофизики клетки ФИЦ ПНЦБИ РАН 6 мая 2019 года (протокол №2).

Станислав Сергеевич Колесников
Заведующий лабораторией
Молекулярной физиологии клетки ИБК ФИЦ ПНЦБИ РАН
д.б.н., профессор
Email: staskolesnikov@yahoo.com
Тел.: 8-(4967)-739121

06.05.19.

*Подпись Колесникова Станислава Сергеевича
утверждаю.*



*Исполнительный секретарь ИБК ПНЦБИ
Шавыгин Д.С.*