

ОТЗЫВ

члена диссертационного совета на диссертацию Евгения Александровича Цветкова «Механизмы пластичности синаптической передачи и их роль в формировании амигдала-зависимого поведения», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук Санкт-Петербургского государственного университета по специальности 03.03.01 –физиология

Актуальность темы исследования. Проблема изучения механизмов синаптической пластичности продолжает оставаться одной из наиболее интенсивно разрабатываемых в современной нейрофизиологии. Одной из важнейших и недостаточно разработанных проблем является изучение молекулярных механизмов, лежащих в основе такой базовой эмоциональной реакции как страх. В сложной многокомпонентной системе мозга ключевой структурой в механизме поведенческих и физиологических реакций страха является одна из структур лимбической системы – амигдала. В исследовании этой проблемы наибольший интерес вызывают механизмы синаптической пластичности нейронов дорсального ядра амигдалы, предположительно являющихся субстратом формирования амигдала-зависимого страха. Однако, несмотря на большое число исследований в данной области, многие принципиально важные вопросы до сих пор остаются сравнительно малоизученными. Прежде всего, это касается функциональной роли долговременной потенциации, а также механизмов регуляции ряда белков, вовлеченных в ее реализацию. В связи с этим, диссертационное исследование Е.А. Цветкова, посвященное комплексному изучению молекулярных механизмов долговременной потенциации сенсорных синапсов дорсолатерального ядра амигдалы, безусловно, является весьма актуальным для современной нейрофизиологии.

Научная новизна исследования. Диссертационная работа выполнена на крысах и мышах с применением комплексного электрофизиологического анализа в сочетании с условно-рефлекторными и генетическими подходами, которые удачно дополняют друг друга, что повышает эвристическую ценность

PK 09/2 - 66 от 07.05.18

данного исследования. Автором работы впервые получены доказательства ключевой роли долговременной потенциации в пластичности синапсов амигдалы в ходе формирования амигдала-зависимых реакций; установлен тип и субъединичный состав участвующих постсинаптических рецепторов. Оригинальными и новыми являются также данные о модулирующей роли тормозных влияний со стороны ГАМК-ергических интернейронов. К наиболее важным результатам относятся впервые полученные данные о том, что долговременная потенциация носит в основном пресинаптический характер и запускается при совпадении активности пресинапса и деполяризации постсинаптической мембраны, сопровождающейся поступлением кальция в клетку, причем идентифицирован тип кальциевых каналов. Автором впервые установлена также роль статмина и гастрин-высвобождающего пептида в регуляции пластичности нейронов дорсолатерального ядра амигдалы, установлены пути такой регуляции.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные результаты важны не только в теоретическом плане, но и с прикладной точки зрения. Новые данные об особенностях синаптической передачи и синаптической пластичности важны для более глубокого понимания этих важнейших нейрофизиологических механизмов. Выявленные новые фундаментальные закономерности позволяют лучше понять нейрональные механизмы функционирования ЦНС в норме и при некоторых патологических состояниях. Эти сведения важны также для понимания механизмов развития и нарушения психических функций при некоторых патофизиологических состояниях; они могут быть использованы при экспериментальном моделировании таких заболеваний, быть полезными при разработке методов их фармакологической коррекции. Результаты и выводы диссертации могут быть использованы в курсах лекций по нейрофизиологии и физиологии в высших учебных заведениях биологического и медицинского профиля. Полученные результаты будут также полезны для проведения дальнейших исследований в ряде вузов и институтов, занимающихся сходными проблемами.

Структура и объем диссертационной работы. Диссертационная работа построена по традиционному принципу, изложена на 179 страницах и содержит 36 рисунков и 2 таблицы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов и их обсуждения, заключения, выводов, списка публикаций автора и списка цитированной литературы, содержащего 243 источника.

Во «Введении» кратко изложена суть проблемы, обоснованы цель и задачи исследования, сформулированы положения, выносимые на защиту. Данная часть диссертации четко соотносится с выводами, сделанными в конце работы на основании анализа полученных результатов.

Глава «Обзор литературы» представляет собой детальный анализ современных представлений по рассматриваемой проблеме, начиная с теории эмоций и трактовки механизмов страха, и заканчивая нейронными механизмами синаптической пластичности как основы формирования ассоциативных условно-рефлекторных связей. Дается анализ степени изученности проблемы. Обзор написан хорошим литературным языком, автор успешно отразил данные большого количества как современных, так и классических исследований по изучаемой проблеме. В целом, обзор литературы свидетельствует о хорошем знании автором современного состояния в данной области и является солидным теоретическим фундаментом, используемым в дальнейшем для описания и обсуждения результатов. Эта часть работы также позволила автору не только охарактеризовать всю проблему в целом, но и логически обосновать цель и задачи исследования.

В главе «Материалы и методы исследования» описаны электрофизиологические методы и поведенческие тесты, а также примененные способы статистической обработки. Условия проведения опытов описаны весьма квалифицированно и достаточно подробно. Эта часть дает необходимую информацию о методических особенностях данной работы. Корректность выбора объектов исследования, а также адекватность методических приемов не вызывают сомнений.

Главы «Результаты и обсуждение» и «Заключение» представляют собой значительную часть диссертационной работы. Как уже отмечалось выше, новизна и научно-практическая ценность полученных автором экспериментальных данных не вызывают сомнений. В этих главах дается подробное изложение полученных результатов и предпринимается успешная попытка их анализа и интеграции в общем «Заключении».

На основании полученных результатов сделано 7 выводов, которые логически вытекают из результатов и полностью соответствуют положениям, вынесенным на защиту.

Публикации. Основные результаты и положения диссертации полностью представлены в 22 публикациях, причем 17 из них опубликованы в научных рецензируемых журналах, входящих в международные базы научного цитирования Web of Science Core Collection и Scopus. Большая часть результатов опубликована в ведущих международных журналах с высоким импакт-фактором (Cell, Neuron, Eur. J. Neuroscience, J. Neuroscience).

Степень обоснованности научных положений и выводов, полученных соискателем. В диссертационном исследовании автор использовал комплекс самых современных методов, включая электрофизиологические методы регистрации и анализа электрической активности индивидуальных нейронов; методы фармакологического анализа; применил условно-рефлекторные и генетические подходы. Методы полностью соответствуют поставленным в работе задачам. Результаты экспериментов хорошо документированы, иллюстративный материал обширен и свидетельствует о высоком качестве экспериментальных данных. Все исходные данные тщательно обработаны и подвергнуты разностороннему анализу. Обсуждение и оценка собственных результатов проведены автором корректно и не вызывают возражений. При обсуждении результатов рассмотрены различные варианты трактовок с привлечением достаточно большого числа публикаций по данной проблеме. Учитывая обширный экспериментальный материал, самый современный уровень исследований и анализа результатов, апробацию работы на достаточно

большом числе отечественных и международных научных собраний, новизна исследования и достоверность выводов не вызывает никаких сомнений.

Диссертация изложена хорошим научным и литературным языком, не вызывает принципиальных замечаний ни по форме, ни по содержанию. Однако при знакомстве с диссертацией возникли некоторые вопросы и замечания.

Вопросы:

1) В работе для оценки степени облегчения (характеристика кратковременных форм пластичности, базирующихся на принципе кальциевого микродомена) использован протокол парной стимуляции. Остается не совсем ясным, в частности, применение этого теста в условиях долговременной потенциации (базирующейся на других принципах) и интерпретация снижения уровня облегчения как результат увеличения вероятности выброса медиатора (стр. 97, 98). Что при этом происходит с запасом доступного для освобождения квантов медиатора (readily releasable pool), который является сложным результатом процессов секреции и мобилизации квантов?

2) Что автор думает о возможности вовлечения эндоканнабиноидной системы в пресинаптический механизм долговременной потенциации, учитывая данные о широком распространении каннабиноидных рецепторов в амигдале и о роли входящего кальция в запуске секреции эндоканнабиноидов из постсинаптической клетки?

3) И, наконец, вопрос дискуссионного характера: насколько полученные на животных данные можно экстраполировать на человека?

Замечания:

1) В методике указана только полоса пропускания до ввода аналогового сигнала в компьютер, но не указана последующая частота квантования, что, исходя из теоремы Котельникова (Найквиста) важно знать для оценки точности регистрации сигналов.

2) Редко, но встречаются, неудачные выражения типа «...механизм ДВП экспрессируется на пресинаптическом уровне исследуемых синапсов» (стр. 9); «эффект спермина на амплитуду...» (стр. 92).

Необходимо отметить, что заданные вопросы и отмеченные недостатки нисколько не снижают общую очень высокую оценку представленной работы.


Заключение:

Рассмотренная диссертационная работа представляет собой законченное оригинальное исследование, посвященное актуальной фундаментальной проблеме нейрофизиологии и имеющее важное теоретическое и практическое значение.

На основании изложенного считаю, что представленная диссертационная работа Цветкова Евгения Александровича «Механизмы пластичности синаптической передачи и их роль в формировании амигдала-зависимого поведения» соответствует основным требованиям, установленным Приказом от 01.09.2016 №6821/1 "О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете", соискатель Цветков Евгений Александрович заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

04 мая 2018 г.

Член диссертационного совета
доктор биологических наук,
старший научный сотрудник,
профессор кафедры общей физиологии



подпись

И.И. Кривой

ЛИЧНУЮ ПОДПИСЬ

И.И. Кривой

ЗАВЕРЯЮ

