

УТВЕРЖДАЮ
Проректор – начальник
Управления научной политики
и организации научных исследований

МГУ имени М.В.Ломоносова
А.А.Федянин



_____ 2019 года

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу

МЫСИНА Ивана Евгеньевича

«Математическое моделирование генерации тета-ритма в септо-гиппокампальной системе»,

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.01.02 (биофизика)

Об актуальности работы можно судить по числу ссылок в информационной системе PubMed по запросу “theta-rhythm” – 5820, по запросу “theta-rhythm, hippocampus” – 2143.

Проблему θ -ритма можно разделить на несколько составляющих: 1) Биофизические механизмы генерации θ -ритма, в которых, в свою очередь, можно выделить а) биофизический механизм генерации θ -ритма в нейронных структурах, б) механизм формирования полевого потенциала. 2) Координация нейронных процессов θ -ритмом. 3) Корреляты θ -ритма в поведении. Основное содержание работы сосредоточено вокруг первой из перечисленных проблем.

Работа состоит из 7 глав. 1 глава – введение, общая характеристика работы; здесь даётся достаточно полное представление об основных

направлениях и полученных автором результатах, сформулированы основные положения, выносимые на защиту.

Глава 2 даёт достаточно полное представление об анатомическом строении гиппокамповой формации (2.1), гистологическом строении гиппокампа и медиальной септальной области (2.2), энторинальной коры (2.3).

В 3 главе - подробная характеристика (активности) нейронов гиппокампа и медиальной септальной области. Можно только отметить недостаток современных данных о роли дофаминовой модуляции и NMDA-зависимой глутаматэргической передачи.

4 глава представляет обзор современного состояния исследований механизмов генерации и функциональной роли θ -ритма.

4.1. Роль медиальной септальной области в генерации θ -ритма. С этого раздела начинается внутреннее противоречие, проходящее через всю работу: с одной стороны, автор приводит аргументы в пользу существования двух самостоятельных последовательно включённых θ -генераторов в медиальной септальной области (ГАМК \leftrightarrow ГАМК и Глутамат \leftrightarrow ГАМК), с другой, скептически высказывается о «существовавшем мнении о разделении тета-осцилляций на две полосы – низкочастотный (4-6Гц), ... (атропин-чувствительный) и высокочастотный (7-12Гц)...(атропин-независимый)... В современной литературе не принято разделять тета-ритм на полосы.» Отметим, что в определении типа θ -ритма важна не только (и, может быть, не столько) частота, сколько химическая специфичность и вид сопутствующего поведения [напр., G. Gangadharan et al. PNAS. 2016, 113, 23: 6550–6555; F. Fuhrmann et al. Neuron.2015, 86, 1253–1264].

4.2. Здесь подробно рассмотрена роль отдельных нейронных популяций в пейсмекерной функции медиальной септальной области. Складывается впечатление, что (в отличие от ГАМК-генератора) в литературе всё же недостаточно данных, доказывающих существование самостоятельного глутаматного генератора, - хотя ритмическая стимуляция

глутаматэргических нейронов вызывает усиление мощности и подстройку частоты θ -ритма, усиление мощности θ -ритма вызывает и введение агонистов глутаматных рецепторов [Astasheva E. et al. *Epilepsy Res.* 2015. 109: 134–145].

4.3. Хотя содержание этого раздела имеет только косвенное отношение к теме диссертации, отметим использование несколько расплывчатого и старомодного понятия «ретикулярная формация» как основного драйвера глутаматного генератора, при отсутствии современных данных об индукции и регуляции θ -ритма со стороны дофаминэргической системы [J.Orzeł-Gryglewska et al. *Synapse.* 2015, 69:553–575].

4.4. Здесь, в частности, рассмотрены привязки активности нейронов полей CA1, CA3 и энторинальной коры к фазам θ -ритма. Приводятся важные данные о том, что нейроны 3 слоя энторинальной коры, проецирующиеся в поле CA1 в составе перфорантного пути, разряжаются на пике θ -ритма, а нейроны CA3 на нисходящей фазе θ -ритма в CA1.

В следующем разделе (4.5) подробно рассмотрены биофизические механизмы генерации θ -ритма. Здесь начинается обсуждение ключевой в диссертации темы о роли интернейронов гиппокампа в генерации потенциала поля θ -ритма. Аргументация автора против важной роли корзинчатых и OLM- интернейронов в генерации потенциала поля θ -ритма основана на анализе фазовых привязок активности интернейронов к волне θ -ритма. К этому можно было бы добавить, что поскольку потенциал равновесия для ионов Cl⁻ (E_{Cl}) относительно близок к мембранному потенциалу покоя (E_0) (и даже меняется в процессе онтогенеза), роль ионных токов, вызванных возбуждением интернейронов в генерации полевого потенциала может быть относительно невелика в сравнении с токами, вызванными активацией глутаматных AMPA-рецепторов (интересно, как бы выглядел θ -ритм, если бы $E_{Cl} \sim E_0$). Но, перефразируя автора, можно сказать, что роль интернейронов не в генерации полевого потенциала и мощности θ -ритма, а в организации (ритмизации) вычислительного процесса в пирамидных клетках, который может быть основан в большей степени на шунтировании, а не

гиперполяризации постсинаптической мембраны под влиянием активации ГАМК-рецепторов.

4.6, 4.7. В этих разделах подробно рассмотрены особенности генерации θ -ритма в поле СА3, зубчатой фасции, энторинальной коре и переживающих срезах гиппокампа. В частности, заслуживает внимания анализ карбахолового “ θ -ритма” в изолированном гиппокампе и его сравнение с “нормальным”. Пожалуй, в списке литературы к этому разделу недостаёт обзорной работы [R.G.Traub et al. Annu. Rev. Neurosci. 2004. 27:247–78].

В разделах 4.8 и 4.9 приводятся некоторые данные о связи θ -ритма с другими ритмами и о распространении θ -ритма по септо-темпоральной оси гиппокампа. Эти разделы дополняют общую картину функционирования гиппокампа, но прямого отношения к теме диссертации не имеют.

4.10. Тета-ритм и когнитивные процессы. Автор рассматривает феноменологию θ -ритма применительно к довольно расплывчатым психологическим конструктам (когнитивные процессы, внимание, запись/воспроизведение информации, память), уделив недостаточно внимания особенностям θ -ритма при простых формах поведения. Некоторое место в этом разделе занимает описание так называемой STDP-пластичности, однако сравнительно недавние работы, по-видимому, подтверждают мнение J.Lisman об STDP как чисто лабораторном (эпи-) феномене: в реальном поведении совпадение пре- и пост- синаптической активности в достаточно широком временном окне независимо от порядка следования импульсов приводит к LTP или LTD под влиянием соответственно дофаминовой [V.Pawlak et al. Front. Synaptic Neurosci. 2010. 2, Art. 146] или ацетилхолиновой [Z.Brzosko et al. eLife 2017. DOI: 10.7554/eLife.27756; S.Zannone et al. Scientific Reports 2018. 8:9486] модуляции (см., тем более [K.C.Bittner et al. Science.2017. 357, 1033–1036]). Недостаточное, на наш взгляд, внимание уделено корреляции θ -ритма с “произвольными” движениями, повторяющей соответствующую корреляцию для дофаминэргической системы, активация проекций которой в септум в

свою очередь вызывает генерацию θ -ритма. В связи с работами [B.H. Bland et al. Behavioural Brain Research 179 (2007) 299–304, A.Gozzi et al. Neuron 2010 67, 656–666] можно было бы поставить вопрос, а существует ли вообще не связанный с активным поведением θ -ритм? Нейронные аттракторы в данном разделе упоминаются как бы сами по себе, без привязки к θ -ритму; здесь можно было бы вспомнить “reset”- гипотезу О.С.Виноградовой, как гипотезу о переустановке (в современных терминах) состояния нейронных аттракторов на каждой волне θ -ритма.

Глава 5. Материалы и методы. В этой главе дано полное описание нейронов и нейронных связей медиальной септальной области (5.1) и пирамидных нейронов и интернейронов гиппокампа. Для описания пирамидного нейрона за основу взята работа [Ferguson K.A., Campbell S.A. Can Appl Math Q. 2009. 17.2: 293–307], в свою очередь, представляющая двухкомпонентную версию модели [R.D.Traub et al. J. Neurophysiol. 1991. 66: 635–650]. Можно было бы ещё привести ссылки на последующие работы [Traub et al. J.Physiol.1994. 481.1: 79-95] и в особенности на «всеобъемлющую» работу [R.D.Traub et al. J. Neurophysiol. 2005. 93: 2194-2232], в которой, в частности, использовался иной, чем в диссертации метод оценки потенциалов поля. По непонятной причине в модель не включены NMDA-зависимые ВПСП, в первоисточнике они есть. При описании дендросоматического сопряжения в диссертации без обоснования данными о морфологии пирамидных нейронов CA1, использовано соотношение площадей дендрита и тела пирамидной клетки $p=0.5$. В то же время в работе [Z.F. Mainen, T.J.Sejnowski. Nature. 1996. 382:363-366] (правда использовавшей данные о размерах гигантских пирамид коры) в аналогичной двухкомпонентной модели при соотношении в диапазоне $p \approx 100-200$ в активности пирамид в ответ на постоянную деполяризацию появлялся характерный пачечный режим (не может ли подобный механизм объяснить появление несинхронизированного между нейронами “карбахолового” θ -ритма?)

Для моделирования входов в СА1 от двух популяций септального генератора - из поля СА3 по коллатералим Шаффера и из энторинальной коры по перфорантному пути, использовались цифровые генераторы импульсов с постоянными фазовыми отношениями между ними. Однако не указаны (во всяком случае, в этом разделе) литературные источники, на основании которых были выбраны данные фазовые соотношения. Восприятие этих соотношений очень затрудняет отсутствие схемы, показывающей взаимное расположение периодов активации входов.

Глава 6. Модель медиальной септальной области как пейсмекера гиппокампального θ -ритма. Представленные здесь результаты убедительно показывают возможность генерации θ -ритма в популяциях реципрокно связанных ГАМК-эргических нейронов с фазовым сдвигом, соответствующим экспериментальным данным. Также представлен стандартный механизм генерации ритма в системе связанных глутаматэргических нейронов с возвратным торможением от непроекционных ГАМК-эргических нейронов септум. Автор пишет: «приведённые механизмы независимы. Как видно из рисунков 9 и 10 удаление из модели одного из механизмов не приводит к разрушению противофазного режима между популяциями противофазных ГАМК-эргических нейронов». Тем не менее, мощность ритмики на рис.9 (без глутаматного генератора) много меньше, чем на 10-м. Это принципиальный результат или изменив параметры можно сделать 9-й рисунок таким же красивым, как и 10-й?

Основное заключение, которое автор делает в этой части работы, - «система Глу \leftrightarrow ГАМК в модели играет ключевую роль, при участии этой системы противофазный режим становится более устойчивым». Так в модели. А на самом деле? В обсуждении этой части работы автор так оценивает соотношение модели с фактическими данными: «Имеющиеся данные о структуре межнейронных связей в МСО *косвенно* (курсив наш) свидетельствуют в пользу существования такого механизма возникновения

ритмической залповой активности в септальной сети. Глутаматэргические нейроны (проекционные и локальные) иннервируют друг друга, а также, *по всей видимости*, популяцию непроекционных ГАМК-эргических нейронов... В свою очередь, непроекционные ГАМК-эргические клетки, *вероятно*, иннервируют глутаматэргические, контролируя их активность... Таким образом, выдвинутая нами гипотеза *не противоречит* имеющимся морфо-функциональным данным.»

В качестве существенного аргумента в пользу ключевой роли глутаматного генератора автор приводит литературные данные, показывающие, что стимуляция глутаматэргических нейронов на разной частоте вызывает подстройку частоты θ -ритма. Автор пишет, что эти «результаты... очень сильно поддерживают точку зрения, что именно глутаматэргические нейроны играют роль генераторов ритма в МСО». Но разве генерация ритмического ответа в нейронах-приёмниках на ритмическую стимуляцию афферентных входов доказывает существование генератора ритма в нейронах-источниках афферентации?

Представленные в этом разделе результаты могут быть серьёзным стимулом к проведению соответствующих проверочных экспериментов. В качестве таковых автор предлагает оптогенетическую модуляцию активности глутаматных и непроекционных ГАМК-эргических нейронов септум; можно было бы, сродни с уже проведённой в лаборатории работой [Astasheva E. et al. *Epilepsy Res.* 2015. 109: 134–145], использовать локальное введение антагонистов AMPA-рецепторов, здесь интересен был бы «отрицательный» результат – слабое влияние антагониста на генерацию θ -ритма.

Основной вывод, сделанный автором: “При сильном возбуждающем входе в медиальную септальную область со стороны ствола мозга ключевую роль в генерации нейронной θ -ритмичности играют глутаматэргические нейроны, при слабом входе со стороны ствола эта роль выполняется пейсмекерными проекционными ГАМК-эргическими нейронами.” Оставляя в стороне физиологическое содержание таких понятий как ствол мозга,

сильный или слабый вход, можно заметить, что этот вывод можно рассматривать и как обоснование представления о двух типах θ -ритма, представления, к которому автор, как нам показалось, в других местах относится скептически.

Глава 7. Модель генерации θ -ритма в поле CA1 гиппокампа. Здесь представлено много интересных результатов о роли отдельных популяций нейронов гиппокампа и фазовых соотношений между их активностью в генерации полевого потенциала θ -ритма. Стоит отметить правдоподобное объяснение максимальной активации корзинчатых нейронов на нисходящей фазе θ -ритма в пирамидном слое: "... корзинчатые нейроны разряжаются в момент деполяризации тел пирамидных нейронов, хотя они тормозят перисоматическую зону пирамидных клеток, и должны вызывать гиперполяризацию. Мы полагаем, что снять такой парадокс можно, приняв гипотезу о том, что коллатерали Шаффера возбуждают пирамидные нейроны сильнее, чем их тормозят корзинчатые нейроны".

Отметим ещё некоторые места, показавшиеся нам неясными, спорными или противоречивыми. Автор пишет, что «в нашей базовой модели влияние перфорирующего пути мало, потому что в противном случае пирамиды будут разряжаться под действием возбуждения синапсов перфорирующего пути и нарушится прямая привязка активности пирамидных нейронов к минимуму θ -волны». Но активность корзинчатых клеток в одной фазе с нейронами энторинальной коры подавляет распространение деполяризации от дендрита к соме и генерацию спайков пирамидными клетками.

Из текста следует, что нейроны 3 слоя энторинальной коры активируются на пике θ -волны, а OLM-нейроны вместе с пирамидами CA1 на минимуме θ -волны (напр., рис.14), т.е. в противофазе. Однако на рис.13.Г активность OLM-нейронов приходится как раз на паузу между спайками пирамид CA1, как согласовать рис. 13Г с рис.14?

Один из основных выводов из этого раздела (№3) утверждает, что «Синаптические входы от корзинчатых и OLM нейронов на пирамидные

клетки не вносят существенного вклада в генерацию θ -волны в поле CA1. Прямой вход в поле CA1 от проекционных ГАМК-эргических нейронов медиальной септальной области не определяет мощность θ -ритма...». Как согласуются с этими утверждениями данные рис.15 и 21, которые показывают что увеличение плотности связей от корзинчатых и OLM нейронов вызывает увеличение мощности θ -ритма никак не меньше, чем увеличение плотности связей от коллатералей Шаффера. С другой стороны, рисунок 18 показывает, что мощность θ -ритма слабо зависит от числа синапсов от проекционных ГАМК-нейронов на корзинчатых и OLM нейронах. Но эти результаты можно согласовать только в том случае, если септальный вход слабо влияет на интернейроны CA1. Действительно, как показывает рис. 18А фазовая привязка OLM нейронов совершенно не зависит от ПВ2 входа из септум.

Глава 8. Заключение. Здесь автор наиболее кратко формулирует два основных вывода из своей работы. "...в нашей модели МСО мы показали, что ритмический противофазный режим между популяциями проекционных ГАМК-эргических нейронов может возникать и за счет пейсмекерных ГАМК-эргических нейронов, и за счет глутаматэргических нейронов. Эти режимы возникают при разном уровне внешнего возбуждения... " Фактически автор представил двух-генераторную модель θ -ритма, которую можно рассматривать как нейронную основу гипотезы о двух типах θ -ритма при разном поведении животного.

Далее в Заключении автор пишет, что "В модели генерации тета-ритма в поле CA1 мы показали, что корзинчатые нейроны существенно не влияют на форму тета-волны при сильном входе по коллатералям Шаффера." Перефразируя автора диссертации, можно сказать, что цель возбуждения корзинчатых и OLM интернейронов в противофазе не в генерации волны θ -ритма, а в том, чтобы наилучшим образом учесть влияние дендритного потенциала при принятии решения о генерации импульса в соме.

Кратко суммируем основные, по нашему мнению, вопросы и замечания.

- Работа основана на двухкомпонентной модели θ -генератора, но автор не связывает такую структуру с двумя типами θ -ритма и не выделяет особо «двигательный» θ -ритм, хотя дофаминовое возбуждение запускает θ -ритм и коррелирует с «произвольными» движениями примерно также как θ -ритм 1 типа в представлении Vanderwolf'a.

- В модели нейрона отсутствуют NMDA-рецепторы; не обоснован морфологическими данными выбор дендро-соматического отношения $p=0.5$.

- Данные на рис.13, на наш *взгляд*, не вполне согласуются с утверждением о том, что нейроны ЭК III и OLM-нейроны возбуждаются в противофазе.

Подводя общий итог, выделим основные, по нашему мнению, достижения и выводы, которые можно сделать из результатов диссертации.

- На основе адекватных биофизических моделей отдельных нейронов (пирамидных, интернейронов) гиппокампа разработана программная платформа для теоретического изучения (моделирования) интегративной деятельности гиппокампа.

- Разработана двух-компонентная (двух-генераторная) модель генерации θ -ритма, создающая основу для изучения нейрофизиологических механизмов двух типов θ -ритма, выделенных при изучении поведения животных.

- Дано правдоподобное объяснение парадоксальному факту наибольшей активации корзинчатых нейронов на нисходящей (деполяризационной) фазе θ -ритма в пирамидном слое: “возбуждение от коллатералей Шаффера на some пирамидных нейронов превосходит торможение от активации корзинчатых нейронов.”

- Продемонстрирована разница между вычислениями и генерацией полевого потенциала в гиппокампе (противофазная активность тормозных

интернейронов создаёт основу для вычислений, но не играет существенной роли в генерации потенциала поля).

• Результаты, полученные в диссертации, мотивируют и задают направления дальнейших исследований, вплоть до конкретных опытов. Естественным продолжением работы было бы воспроизведение гармонии фазовых отношений θ -ритма в “большой петле” гиппокамповой формации без “ручного управления” входами из СА3 и энторинальной коры. Интересно сравнить ацетилхолиновый (2 типа?) и дофаминовый (1 типа?) θ -ритм. На биофизической модели пирамидного нейрона – определить оптимальные фазовые отношения входов, обеспечивающие максимизацию полевого потенциала (как на рис. 20 в диссертации) и минимизацию «горизонтальной» утечки дендро-соматического тока.

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

Отзыв утверждён на заседании кафедры высшей нервной деятельности 10 сентября 2019 г., протокол №5

Заведующий кафедрой высшей нервной деятельности

доктор биологических наук,

профессор

А.В.Латанов

Ведущий научный сотрудник кафедры высшей нервной деятельности

кандидат биологических наук

В.И.Майоров

Сведения о ведущей организации
 по диссертации Мысина Ивана Евгеньевича
 «Математическое моделирование генерации тета-ритма в септо-гиппокампальной
 системе»,
 представленной к соисканию ученой степени кандидата биологических наук по
 специальности 03.01.02 — Биофизика

Полное наименование организации в соответствии с уставом	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»
Сокращенное наименование организации в соответствии с уставом	Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, МГУ имени М.В.Ломоносова, или МГУ
Ведомственная принадлежность	Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова
Место нахождения	г. Москва
Почтовый индекс, адрес организации	119991, г. Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1
Адрес официального сайта в сети Интернет	www.msu.ru
Телефон	(495) 939-27-29
Адрес электронной почты	info@rector.msu.ru
Список публикаций сотрудников ведущей организации по теме диссертации соискателя в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет (не более 15 публикаций)	<p>1. Серков А.Н., Майоров В.И. δ - θ -модуляция быстрой γ-активности вентральной области покрышки среднего мозга крыс во время условного рефлекса избегания. Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова, издательство Наука (М.), 2015. том 65, № 3, с. 363-371.</p> <p>2. Серков А.Н., Серкова В.В., Майоров В.И. Взаимодействие медиальной префронтальной коры, вентрального гиппокампа и базолатеральной миндалины при выполнении условного рефлекса избегания. Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова, издательство Наука (М.), 2015. том 65, № 2, с. 230-239</p> <p>3. Серков А.Н., Лебедева-Георгиевская К.Б., Майоров В.И. Длительная потенциация и синхронизация активности в гиппокампо-корковых связях. Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова, издательство Наука (М.), 2014. том 64, № 5, с. 542-550</p>

4. Майоров В.И., Серков А.Н. Анализ Δ- и Θ-ритмов условного рефлекса избегания методом Granger Causality. Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова, издательство Наука (М.), 2016. том 66, № 3, с. 334-33.

5. Майоров В.И. Поиск скрытой платформы в тесте Морриса по дофаминовому градиенту на клетках места. Журнал высшей нервной деятельности, 2018, том 68, № 4, с. 429-433

6. Майоров В.И. Функции дофамина в инструментальном условном рефлексе. Журнал высшей нервной деятельности, 2018, том 68, № 4, с. 404-414.

7. Майоров В.И. Компьютерная модель нейронных процессов, наблюдаемых в двигательной коре кошки при выполнении инструментального движения. Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова, издательство Наука (М.), 2002. том 52, № 4, с. 467-478.

8. Майоров В.И. Анализ участия гиппокампа в организации поведения животных. Журнал высшей нервной деятельности. 1987. 37(5): 880-887.

«Верно»

Проректор –
начальник Управления научной политики
и организации научных исследований
МГУ имени М.В.Ломоносова
А.А.Федянин



« ___ » _____ 2019 года.