

УТВЕРЖДАЮ:

Директор Института высшей

нервной деятельности

и нейрофизиологии РАН,

профессор РАН, д.б.н. А.Ю. Малышев



« 17 » 10 2024 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской Академии наук» на диссертацию Кузнецова Виктора Петровича «Генерация эндогенного электрического потенциала в новой модельной системе», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.8 — математическая биология, биоинформатика

Актуальность темы выполненной диссертационной работы.

Диссертационная работа Кузнецова Виктора Петровича посвящена актуальной проблеме генерации и передачи ритмических сигналов между клетками и сравнению свойств и механизмов такой передачи у разных организмов, что является важнейшей задачей для современных исследований в биологии. В качестве модельного объекта диссертантом были выбраны представители типа *Nematoda* и в качестве поведения ритмическая моторная программа дефекации, организуемая автономно без участия нервной системы клетками кишечника. Это ритмическое поведение изучено при помощи различных электрофизиологических и биоинформатических методов и

представляет большой интерес для современной науки. В ходе исследований обнаружено, что ритмическая активность кишечника организуется оригинальным гиперполяризационным потенциалом действия, который, как и классический потенциал действия, реализуется по принципу все-или-ничего. Эти данные позволяют расширить примеры клеток возбудимой ткани от классических нейронов и кардиомиоцитов до энтероцитов.

В работе поставлена задача исследовать электрофизиологические механизмы дефекации нематод, построение модели, описывающей как сам процесс, так и роль мембранных белков в данном процессе.

Вышесказанное отражает актуальность и практическую значимость диссертационной работы Кузнецова Виктора Петровича.

Научная новизна, теоретическое и научно-практическое значение диссертационного исследования

Автором в процессе диссертационного исследования впервые с помощью мультиэлектродной регистрации электрофизиологических параметров клеток кишечника и введения маркерных молекул показано, что между клетками кишечника *Heterorhabditis megidis* есть электрическая связь с высоким, близким к 1 коэффициентом связи. Впервые проведено комплексное электрофизиологическое исследование ультрадианного ритма дефекации нематоды. Было обнаружено, что ритмическая активность кишечника организуется оригинальным гиперполяризационным потенциалом действия, перевёрнутым относительно классического потенциала действия других возбудимых тканей. Измерение проводимости клеточной мембраны позволило показать зависимости мембранного потенциала клетки и самой проводимости от времени и предположить потенциальную роль мембранных белков в генерации необычных ритмических осцилляций у *H. megidis*. Биоинформатический анализ

позволил выявить гены-кандидаты, участвующие в организации этой ритмической активности в энтероцитах нематод, прояснить пути их эволюции.

Диссертационная работа Кузнецова Виктора Петровича относится к числу фундаментальных научных исследований и имеет большое научно-практическое значение. Представленная работа отличается высокой степенью новизны, и многие данные являются впервые полученными в мировой литературе. Полученные данные представляют интерес для широкого круга исследователей в нейробиологии, физиологии, математической биологии и биоинформатики. Результаты диссертационной работы могут быть использованы в научных исследованиях, в процессе обучения студентов биологических вузов.

Степень обоснованности и достоверности научных положений и выводов.

Достоверность полученных результатов подтверждается 7 публикациями автора в рецензируемых научных журналах. Задачи исследования корректно сформулированы и соответствуют поставленной цели. Результаты экспериментов представлены в виде большого количества (28) рисунков. Выводы научного исследования вытекают из полученных в диссертационной работе результатов и полностью соответствуют поставленным задачам. Результаты исследований были продемонстрированы на международных и российских конференциях: XI конференция «Простые нервные системы» Международного общества нейробиологии беспозвоночных (International Society of Invertebrate Neurobiology, ISIN), Звенигород, Россия в 2016 году, Московской международной конференции по вычислительной молекулярной биологии в 2017 году (Moscow Conference on Computational Molecular Biology, MCCMB'17 – Москва, Россия), 5й Московской международной конференции «Molecular phylogenetics and biodiversity biobanking», Москва, Россия в 2018 году и др.

Достоверность результатов, научных положений и выводов не вызывает сомнений ввиду большого объема экспериментальных данных, корректно

выбранных методов анализа, включая статистические методы. Используемые в диссертационной работе методы, полученные результаты и сформулированные выводы полностью соответствуют научной специальности 1.5.8 — математическая биология, биоинформатика.

Содержание диссертации и её оценка.

Диссертационная работа построена по традиционной схеме, изложена на 143 страницах машинописного текста и состоит из введения, детального обзора литературы, 4-х глав с результатами и обсуждением, главы обсуждения, сравнивающей энтероциты с нейронами, раздела «Материалы и методы», заключения, выводов и списка литературы, включающего 144 наименования. Работа хорошо иллюстрирована 28 рисунками.

Во введении автором сформирована цель и задачи работы, показана актуальность темы, выявлены научная новизна и научно-практическая значимость исследования, приведены цели и задачи. В главе «Обзор литературы» рассматриваются основные классические и современные исследования по теме диссертационной работы. Автором проведен тщательный анализ зарубежных, отечественных и своих представлений о механизмах генерации и передачи ритмических сигналов между клетками и сравнение свойств и механизмов такой передачи у разных организмов. Детально рассмотрены молекулярные и электрофизиологические механизмы организации ультрадианных ритмов у нематод, многообразие функций энтодермальных клеток кишечника нематод. Исходя из литературного анализа можно без сомнений сказать, что автору удалось провести анализ современного состояния проблемы и логически обосновать необходимость данного исследования.

Главы, посвящённые результатам исследований и их обсуждению хорошо структурированы и включают информацию о методах и результатах диссертационного исследования. Также приводится сравнение полученных в

диссертационной работе результатов с актуальными литературными данными. На основе полученных данных формулируются выводы в соответствии с заявленной целью, задачами и научными положениями.

В главе «Материалы и методы исследований» описываются объекты и организация исследования, использованные экспериментальные методы исследования, фармакологические препараты и статистическая обработка полученных результатов. Подробно описаны экспериментальные процедуры, представлены схемы экспериментальных установок, приведен список использованного оборудования.

Содержание диссертации соответствует содержанию автореферата и опубликованным статьям. Автореферат в полной мере отражает содержание диссертационной работы.

Каждый сделанный вывод из научных положений отражает новые экспериментальные данные, полученные в диссертационном исследовании.

Существенных замечаний по диссертационной работе нет. Имеется несколько дискуссионных замечаний к диссертационной работе, вызванных большим количеством новой информации в данной диссертационной работе, что в целом не влияет на общую положительную оценку работы.

Вопросы и замечания.

В целом оценка работы самая высокая. Текст выверен, логика изложения очень хорошая, практически нет ошибок, обсуждены и варианты интерпретации данных.

В главе 3 автор проводит моделирование дефекационной моторной программы энтероцитов и строит предположения о возможной ионной и канальной природе ритма. Нам кажется, работа могла бы значительно выиграть, если бы автор попытался проверить свои теоретические построения экспериментами с растворами с изменённым ионным составом и воздействием

селективных блокаторов каналов (если известные для других животных блокаторы работают и на нематодах).

Обсуждая один из возможных механизмов генерации кальциевых волн в кишечных клетках, автор пишет: «по каналам утечки из-за возникшей разницы потенциала происходит вход ионов Ca^{2+} ». Обычно, каналами утечки называют селективные калиевые каналы, и тогда непонятно, как по ним может происходить вход ионов кальция. Возможно, в кишечных клетках нематод селективность каких-то из 46 типов этих каналов позволяет вход двухвалентных ионов, однако это не отражено в литобзоре и обсуждении.

Автор считает, что: «выброс протонов как сигнальной молекулы не имеет аналогов в нейронных синапсах», что неверно, так как протоны в роли нейротрансмиттера достаточно хорошо известны, см. обзор Uchitel et al., 2019 (DOI: [10.1002/syn.22120](https://doi.org/10.1002/syn.22120)).

В главе 6 автор сравнивает механизмы сигнализации энтероцитов с таковыми у нейронов, а в легенде к рисунку 25 даже называет химические связи энтероцитов с нейронами и мышцами синапсами. Такая терминология не кажется нам оправданной — классический химический синапс между нейронами и нейронами и мышцами имеет определённую морфологическую ультраструктуру, которой, по крайней мере пока, не показано на энтероцитах. Это, а также длительная временная шкала химического взаимодействия энтероцитов с другими клетками заставляет усомниться в правильности применения термина «синапс» в данном случае. Возможно, данный вид химической сигнализации стоит сравнивать с эндокринными взаимодействиями, у которых также нет специфической морфологической структуры; динамика энтероцитарной сигнализации также опосредована скоростью диффузии и скорее в диапазоне гормонов (минуты), чем нейротрансмиттеров (миллисекунды).

Из мелких недочётов работы стоит отметить пренебрежение знаками пунктуации и злоупотребление аббревиатурами без расшифровки (ЩК, CICR,

РНК ОК) в автореферате. Род исследуемой нематоды читатель узнаёт лишь в середине автореферата, а её полного видового названия нет даже в тексте диссертации. Также можно отметить стилистические несогласования, типа «двоякость работы генератора паттернов», «работа предоставляет изучение», «анализ потенциальных МП белков», «активность изменений МП ... сохраняющаяся даже при фиксации потенциала» и использование жаргона («негативный спайк»).

Эти замечания являются дискуссионными и не снижают общую высокую оценку диссертации.

Заключение:

Диссертационная работа Кузнецова Виктора Петровича на тему «Генерация эндогенного электрического потенциала в новой модельной системе» является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании проведенных автором исследований получены новые данные, совокупность которых можно квалифицировать как значительное научное достижение в области математической биологии и биоинформатики возбудимых тканей. По актуальности, достоверности и новизне результатов, опубликованных в рейтинговых международных журналах, степени обоснованности научных положений и выводов диссертационная работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор Кузнецов Виктор Петрович несомненно достоин присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.8 — математическая биология, биоинформатика.

Диссертационная работа Кузнецова Виктора Петровича соответствует критериям (в том числе п. 9), установленным "Положением о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №

842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650; 20.03.2021 г. № 426; 11.09.2021 №1539), а сам диссертант несомненно заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.8 — математическая биология, биоинформатика.

Отзыв обсужден и утвержден на открытом заседании лаборатории клеточной нейробиологии обучения ИВНД и НФ РАН 15 июля 2024 г.

Рук. лаборатории клеточной нейробиологии обучения,
д.б.н., профессор, академик РАН

Секретарь заседания,

Старший научный сотрудник

Лаборатории клеточной нейробиологии обучения,

к. б. н.

 Балабан П.М.

Подпись Балабана П.М.
УДОСТОВЕРЯЮ
Зам. канд. ИВНД и НФ

Асеев Н. А.

17.10.2024

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН», лаборатория клеточной нейробиологии обучения.

Адрес: 117485 Москва, уд. Бутлерова, д.5А.

Тел: 8-495-334-70-00

E-mail организации: admin@ihna.ru

Сайт организации: <http://www.ihna.ru/>