

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Сучкова Дмитрия Сергеевича «Веретенообразные осцилляции как ритм горизонтальной синхронизации нейронной активности бочонковой коры новорожденных крыс», представленную в диссертационный совет Д 220.034.02 при ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 - физиология.

Актуальность темы выполненной работы. Диссертационная работа Д.С. Сучкова посвящена такому актуальному вопросу современной нейрофизиологии, как изучение роли ритмических осцилляций в механизмах формирования и созревания функциональных нейронных сетей. Еще Дональд Хэбб в своей знаменитой работе «Организация поведения» писал, что нейронные осцилляции являются природным механизмом формирования клеточных ансамблей. Ранние осцилляции в бета- и гамма- диапазоне представляют собой специфический тип активности, характерный для развивающегося мозга. И если роль гамма-осцилляций в качестве механизма, обеспечивающего укрепление релевантных таламокортикальных связей, была недавно описана в литературе, то роль бета-осцилляций, которые достаточно широко представлены в электрической активности развивающегося мозга, оставалась мало изученной. Нейронные осцилляции разных частотных диапазонов играют исключительно важную роль также и в работе мозга взрослых животных. Поэтому понимание принципов и механизмов развития ранних осцилляций, может помочь понять механизмы функционирования и зрелого мозга, что является основной целью всех современных нейронаук.

Крысы, на которых выполнена данная работа, являются удачным объектом для исследования развития головного мозга, поскольку, как принято считать, первые дни постнатального развития головного мозга этого животного соответствуют последним месяцам развития человеческого зародыша. Прекрасной иллюстрацией данного положения является поразительное сходство электрической активности мозга, регистрируемой у недоношенных детей и грызунов первых дней жизни. В ЭЭГ недоношенных детей были обнаружены веретенообразные осцилляции, напоминающие бета-осцилляции в развивающейся бочонковой коре крысы. Таким образом, понимание закономерностей развития мозга крысы в этот период может способствовать разработке методов диагностики и, возможно, способов предотвращения нарушений в центральной нервной системе человека в процессе внутриутробного развития.

Таким образом, цели и задачи, поставленные автором в данной работе, являются, безусловно, актуальными.

Оценка объема, структуры и содержания диссертации. Работа Д.С. Сучкова построена по классической схеме и состоит из введения, обзора литературы, методического раздела, результатов исследования, заключения, выводов, списка сокращений и списка цитированной литературы. Общий объем диссертации составляет 113 страниц, в списке литературы содержится 218 ссылок, работа проиллюстрирована 33 рисунками. Обсуждение результатов исследования автором помещено в раздел «Заключение».

Во введении автор раскрывает актуальность проведенного исследования и подводит к постановке задачи. Затем по пунктам излагаются

цели и задачи исследования.

В «Обзоре литературы» автор описывает имеющиеся представления о структуре и функциях системы вибрисс грызунов и механизмах развития соматосенсорной коры в раннем онтогенезе. Особое внимание уделяется роли ранних сетевых паттернов активности в механизмах формирования соматосенсорных проекционных зон. Обзор литературы иллюстрирован, что значительно облегчает восприятие материала.

Раздел «Материалы и методы» подробно описывает использованные в работе методы исследований. Стоит отметить широкий спектр самых современных нейрофизиологических методов, которые применяются в работе. Это экстраклеточная регистрация нейронной активности при помощи многоканальных электродов на кремниевой подложке (регистрация как суммарной активности, так и активности отдельных нейронов), а также метод оптического картирования по внутреннему сигналу. Особенно хотелось бы отметить примененные математические методы обработки полученных данных (спектральный анализ локальных полевых потенциалов и мультиклеточной активности, анализ синхронности мультиклеточной активности разных регионов головного мозга). Кроме того, автором была разработана уникальная методика, позволяющая проводить оценку частоты и фазы синхронизации мультиклеточной активности с осцилляциями локальных потенциалов. С применением этого метода сделаны основные выводы данной работы. Все это свидетельствует о высоком профессиональном уровне автора.

Глава «Результаты работы» состоит из двух подразделов. В первом

описываются ответы нейронов бочонковой коры на одновременную стимуляцию всех вибрисс, во втором - параметры вызванной активности в бочонке, не получающем прямой сенсорный вход (с удаленной принципиальной вибриссой), при одновременной стимуляции множества вибрисс.

В «Заключении» автор проводит сравнение полученных данных с ранее полученными литературными данными о роли ранних гамма- и бета-осцилляций в механизмах развития соматосенсорной коры.

Выводы работы четко сформулированы и вытекают из полученных в исследовании результатов.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. В работе Д.С. Сучкова с использованием методов экстраклеточной регистрации многоканальными электродами и оптической регистрации нейронной активности по внутреннему сигналу впервые были охарактеризованы ответы нейронов бочонковой коры крысы на одновременную стимуляцию множества вибрисс. Впервые было продемонстрировано, что веретенообразная активность вызывает синхронизацию активности нейронов на частоте бета-диапазона в соседних участках бочонковой коры, в то время как при вызванных гамма-осцилляциях происходит синхронизация активности нейронов на гамма-частоте только внутри одного бочонка. Кроме того, автором был разработан оригинальный метод, позволяющий оценить частотно-фазовую привязку мультиклеточной активности к осцилляторным ритмам вне зависимости от количества потенциалов действия в

регистрируемой мультиклеточной активности.

Теоретическая и практическая значимость. Теоретическая значимость диссертационной работы состоит в том, что в ней впервые раскрыты некоторые клеточные механизмы, обеспечивающие формирование нейронных сетей головного мозга в раннем онтогенезе. В частности, показана роль веретенообразных осцилляций в синхронизации активности больших популяций нейронов бочонковой коры при одновременной стимуляции множества вибрисс – типе стимуляции, который чаще всего возникает в естественных условиях развития животного.

Общность осцилляторных ритмов, регистрируемых в развивающемся неокортексе крыс в первые дни постнатального развития и в головном мозге недоношенных детей в ранний период после рождения, указывает на возможные общие механизмы генерации и функции этих осцилляций. В этой связи изучение ранних осцилляторных ритмов в коре грызунов, произведенное в данной работе, может быть использовано для развития новых подходов к диагностике и лечению когнитивных и неврологических расстройств, возникающих в результате различных нарушений внутриутробного развития человеческого плода.

Степень обоснованности и достоверность полученных результатов, научных положений и выводов. Работа выполнена на очень высоком экспериментальном уровне и производит впечатление грамотного научного исследования. Полученные результаты обработаны с применением современных математических подходов, хорошо проиллюстрированы и

убедительно подтверждают сделанные автором выводы. Исследование проведено с использованием большого экспериментального материала, что обеспечивает достоверность полученных данных.

По материалам работы опубликовано три статьи в журналах, индексируемых международными системами цитирования и, таким образом, являющимися журналами, в которых должны быть опубликованы результаты диссертационной работы согласно рекомендациям ВАК. Кроме того, результаты работы были изложены на пяти Российских и международных конференциях. Хотелось бы дополнительно отметить, что Д.С. Сучков является соавтором еще трех статей (не вошедших в данную диссертационную работу), опубликованных в рейтинговых международных научных изданиях и посвященных изучению механизмов формирования нейронных сетей в процессе раннего онтогенеза крыс, что дополнительно подтверждает высокий профессиональный уровень автора диссертации.

Автореферат и публикации соискателя в полной мере отражают ее наиболее существенные положения и выводы.

Вопросы и замечания по диссертационной работе

В процессе прочтения работы у меня возникло несколько вопросов и замечаний, носящих дискуссионный характер.

Вопросы :

1. Основной вопрос касается многоканальных экстраклеточных электродов, использованных в работе. В разделе «Методы ...» написано, что использовалось два типа электродов: 16- и 32-х канальные, с разным

межканальным интервалом. Однако далее в тексте никак не обсуждается, в каких экспериментах какой электрод использовался и была ли какая-либо разница в получаемых с помощью них данных. Насколько можно судить из раздела «Методы ...», при регистрации на каждом плече электрода выбирался только один канал, с наибольшей вероятностью находящийся в 4-ом слое коры, данные с которого регистрировались и обрабатывались. В связи с этим возникает резонный вопрос: а что происходило с данными, которые регистрировались другими каналами электродов? Сохранялись ли эти данные и подвергались ли анализу? Наблюдались ли в других слоях развивающейся коры те же закономерности, обнаруженные автором для нейронов гранулярного слоя? Например, происходила ли горизонтальная синхронизация активности нейронов во время развития веретенообразных осцилляций?

2. В работе активно анализируются спектры мощности мультиклеточной активности, однако не приведено ни одного спектра колебаний локального полевого потенциала, спектральная обработка которого представляется гораздо более простой и логичной. Например, на рисунке 15А представляется интересным сравнить спектры мощности мультиклеточной активности и локального полевого потенциала, записанного с этого же электрода.
3. Согласно рисунку 8А один и тот же нейрон может регистрироваться одновременно на 7 последовательных каналах одного плеча электрода. В таком случае можно ли утверждать, что в работе регистрировалась активность только клеток 4-го слоя и что к ней не примешивалась

активность нейронов ниже- и вышележащих слоев?

4. Как автор объясняет, что при стимуляции всех вибрисс, кроме принципиальной, количество возникающих потенциалов действия в принципиальном барреле не отличается от такового при стимуляции всех вибрисс, включая принципиальную? Ведь, согласно полученным результатам, существуют возбуждающие входы даже в депривированном барреле. Теоретически эти входы могли бы суммироваться с прямыми входами от принципиальной вибриссы.

Замечания :

1. В разделах «Методология и методы исследования» и «Материалы и методы исследования» указаны разные концентрации уретана (1.5 г/кг и 1 г/кг соответственно). Не совсем понятно выражение «конечная концентрация анестетика». При однократной инъекции анестетика в начале эксперимента (что, скорее всего, имело место) его концентрация должна понижаться к концу периода регистрации.
2. Рисунок 8Б, заимствованный из статьи Mitrukhina et al. 2015, недостаточно объяснен в тексте диссертации. На рисунке приведены результаты симуляции или реальных экспериментов? Если реальных экспериментов, то каким образом происходила детекция потенциалов действия с амплитудой меньшей, чем порог детекции?
3. Под каждой иллюстрацией, приведенной в диссертации, присутствует фраза «Рисунок заимствован (с изменениями) из статьи Suchkov et al., 2018». Во-первых, как минимум, Рисунок 7 отсутствует в

процитированной статье. Во-вторых, на мой взгляд, данная фраза является излишней в диссертации. Понятно, что в основной статье, в которой опубликованы результаты работы, рисунки будут схожими с таковыми в диссертации.

4. В тексте диссертации присутствуют пунктуационные ошибки (отсутствующие и лишние запятые) и неудачные выражения (например, «уничтожаются клеточной смертью»)

Следует отметить, что вышеуказанные замечания никаким образом не снижают актуальность и значимость проведенной автором работы, а лишь демонстрируют потенциальные возможности для ее улучшения.

Заключение

Диссертационная работа Сучкова Дмитрия Сергеевича «Веретенообразные осцилляции как ритм горизонтальной синхронизации», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 - физиология, является научно-квалификационной работой, в которой автор, используя самые современные нейрофизиологические методы, получил новые данные, проливающие свет на механизмы формирования и созревания функциональных нейронных сетей во время раннего постнатального развития неокортекса. Результаты исследования имеют большое значение для нейрофизиологии и биологии развития.

По актуальности, методическому уровню, научной новизне и практической значимости работа соответствует требованиям п. 9

«Положение о присуждении ученых степеней», предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – «Физиология» и соответствует заявленной специальности, о чем свидетельствуют п. 4 и п. 9 Паспорта специальности 03.03.01 – «Физиология», а автор заслуживает присуждения искомой степени по специальности 03.03.01 – «Физиология».

Официальный оппонент:

Директор ФГБУН Института высшей нервной деятельности
и нейрофизиологии РАН,
доктор биологических наук, профессор РАН

6 декабря 2019 г.



Малышев Алексей Юрьевич

Подпись т. Малышева А. Ю.

УДОСТОВЕРЯЮ

Зав. канц. ИВНД и НО Тихур

(Кузнецова Т. Н.)

Контактная информация:

Почтовый адрес: ИВНДиНФ РАН, 117485, Москва, ул. Бутлерова 5А

телефон: (916)540-6902, e-mail: malyshev@ihna.ru