

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Митрухиной Ольги Борисовны «Формирование функциональных соматотопических зон в коре головного мозга крыс во время критического периода развития», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 - физиология.

Актуальность темы выполненной работы

Диссертационная работа О.Б. Митрухиной посвящена такому актуальному вопросу современной нейрофизиологии, как механизмы созревания соматотопических проекционных зон в коре больших полушарий головного мозга в процессе онтогенеза. В частности, в работе исследовалось формирование проекционных полей вибрисс в бочонковой коре крыс в первые дни после рождения. Крысы (и грызуны вообще) являются удачным объектом для исследования развития головного мозга, поскольку, как принято считать, первые дни постнатального развития головного мозга крысы соответствуют последним месяцам развития человеческого зародыша. Прекрасной иллюстрацией вышеизложенного положения является поразительное сходство электрической активности мозга, регистрируемой у недоношенных детей и грызунов первых дней жизни. Таким образом, понимание закономерностей развития мозга крысы в этот период может способствовать разработке методов диагностики и, возможно, способов предотвращения нарушений в развитии центральной нервной системы человека во время внутриутробного развития. Кроме того, описание механизмов формирования нейронных сетей мозга в онтогенезе может внести вклад в развитие наших представлений и о функционировании зрелого мозга.

Известно, что проекционные поля вибрисс в коре головного мозга млекопитающих обладают высокой соматотопией. Однако в каком возрасте происходит окончательное формирование соматотопических проекционных зон до настоящего времени оставалось неизвестным.

Другая важная часть работы посвящена исследованию роли ритмических осцилляций в механизмах формирования и созревания функциональных нейронных сетей. Данный вопрос имеет самое непосредственное отношение к

нейронным механизмам формирования одних и отсечению других, некорректных, проекций в процессе формирования соматотопических зон. И если роль гамма-осцилляций в качестве инструмента, обеспечивающего укрепление релевантных таламокортикальных связей за счет потенцирующего действия на соответствующие синапсы, была недавно описана в литературе, то роль альфа-бета осцилляций, которые достаточно широко представлены в электрической активности развивающегося мозга, оставалась мало изученной.

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

Структура и объем диссертации

Работа О.Б. Митрухиной построена по классической схеме и состоит из введения, обзора литературы, методического раздела, результатов исследования, их обсуждения, выводов, заключения, списка сокращений и списка цитированной литературы. Общий объем диссертации составляет 144 страницы, в списке литературы содержится 342 ссылки, работа проиллюстрирована 45 рисунками.

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

В «Обзоре литературы» автор подробно описывает имеющиеся представления о механизмах развития соматосенсорной коры грызунов на морфологическом и электрофизиологическом уровнях. Особое внимание уделяется роли ранних сетевых паттернов активности в механизмах формирования соматосенсорных проекционных зон. Следует отметить, что обзор литературы богато иллюстрирован, что значительно облегчает восприятие материала.

Раздел «Материалы и методы» подробно описывает использованные в работе методы исследований. Стоит отметить широкий спектр 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), метод внутриклеточной регистрации и метод оптического картирования по внутреннему сигналу. Особенно хотелось бы отметить современные методы обработки полученных данных (вейвлет анализ и

анализ плотности источников тока), без которых было бы невозможно сделать многие выводы работы. Все это свидетельствует о высоком профессиональном уровне автора.

Глава «Результаты работы» состоит из трех разделов. Первые три раздела посвящены процессам сегрегации проекционных полей в первые дни развития крыс. Последняя глава описывает результаты исследований по изучению частотного кодирования сенсорных стимулов в баррельной коре.

В «Обсуждении» автор проводит сравнение полученных данных с ранее полученными литературными данными о механизмах раннего 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

Используя экстра- и внутриклеточную регистрацию нейронной активности головного мозга крысят в первые дни жизни, автор впервые показал, что проекционные поля вибрисс не возникают в конечном виде при рождении животного, но формируются в первые два дня постнатального развития. Показано, что в первые дни жизни проекционные поля одиночных вибрисс носят диффузный характер, то есть стимуляция одной вибриссы вызывает активацию нейронов как в своем, так и в соседнем барреле. Однако начиная с третьего дня жизни проекционные поля достигают уровня сегрегации, свойственного взрослым животным. Впервые показано, что топографические и нетопографические соматосенсорные входы кодируются осцилляциями разных диапазонов: стимуляция основной вибриссы вызывает гамма-осцилляции, тогда как стимуляция соседних вибрисс вызывает альфа-бета-осцилляции. На основании полученных данных делается интересное предположение о противоположной роли этих осцилляций в стабилизации топографических таламокортикальных синапсов и устранении нетопографических синапсов за счет механизмов синаптической пластичности.

Теоретическая и практическая значимость

Теоретическая значимость диссертационной работы состоит в том, что в ней

впервые детально описаны динамика и закономерности созревания соматотопических зон коры в процессе раннего постнатального развития крыс.

На основании полученных данных автор дает ряд практических рекомендаций для клинических нейрофизиологов в плане анализа электрической активности соматосенсорной коры у недоношенных детей. Полученные автором данные могут помочь в создании инструментов для диагностики и лечения врожденных и приобретенных дисфункций головного мозга.

Степень обоснованности и достоверность полученных результатов, научных положений и выводов, сформулированных в диссертации

Работа выполнена на высоком экспериментальном уровне и производит впечатление грамотного научного исследования. Полученные результаты хорошо проиллюстрированы и убедительно подтверждают сделанные автором выводы. Исследование проведено с использованием большого экспериментального материала, что обеспечивает достоверность полученных данных.

По материалам работы опубликовано четыре статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ, причем одна из статей (в которой О.Б. Митрухина является первым автором) опубликована в высокоимпактном зарубежном научном издании (*Cerebral Cortex*, импакт-фактор 8.3), что свидетельствует о высоком научном уровне выполненной работы. Отдельные части работы докладывались на нескольких международных конференциях.

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

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

Замечания:

1. На мой взгляд, работа несколько перегружена иллюстрациями. Иллюстрации большие, часто занимающие всю страницу, при этом подписи к рисункам плохо отделены от основного текста. Все это создает определенные трудности при прочтении текста. Встречаются ситуации, когда рисунку, занимающему целую страницу, посвящено всего одно-два предложения в тексте. Количество

рисунков вполне можно было бы сократить и сами рисунки сделать более компактными. Многие рисунки явно лишние. Например, на рисунке 39 приведен пример регистрации нейронной активности, взятый из статьи Minlebaev et al., 2011, в которой О.Б. Митрухина не является соавтором. Далее на Рис. 42 приведено несколько аналогичных записей, сделанных уже самим автором диссертации.

2. На рисунке 24А представлено возрастное изменение количества вибрисс, стимуляция которых вызывает ответ в одном участке коры. Видно, что количество таких вибрисс резко сокращается от P0 к P2, но затем опять значительно возрастает к P6-P7. В тексте работы никак не комментируется данный факт, вступающий в некоторое противоречие со всеми остальными данными и общей логикой работы. Кроме того, на странице 80, где идет отсылка к рисунку 24, указано, что «общее количество вибрисс, вызывающих МНА, уменьшается до $6,4 \pm 0,5$ » при этом не говорится, какой именно период развития имеется в виду и как это соотносится с рисунком 24.
3. В главе «Обсуждение результатов» отсутствует какое бы то ни было сравнение полученных результатов с данными, описывающими формирование проекционных зон в других отделах сенсорной коры (например, зрительной). На мой взгляд, подобное сравнение значительно украсило бы работу в целом и могло бы привести к появлению более глобальных выводов о механизмах созревания головного мозга в онтогенезе.

Вопросы:

1. Проводился ли автором анализ спонтанной активности, возникающей во время постнатального развития в бочонковой коры крыс? Регистрировалась ли подобная активность во время проведения экспериментов?
2. В работе Yang et al., 2012/Cerebral Cortex с использованием потенциал-зависимых красителей было показано, что площадь коркового ответа на стимуляцию одной вибриссы значительно возрастает от P0 к P7. При этом в настоящей диссертации с использованием мультиэлектродной регистрации электрической активности показано уменьшение площади проекционного поля одной вибриссы в течение того же периода постнатального развития. Интересно, как автор мог бы объяснить подобное расхождение?

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 Митрухиной Ольги Борисовны «Формирование функциональных соматотопических зон в коре головного мозга крыс во время критического периода развития», 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 созревания соматосенсорной коры головного мозга во время раннего постнатального развития. Результаты исследования имеют большое значение для нейрофизиологии и биологии развития.

По актуальности, методическому уровню, научной новизне и практической значимости работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013г. №842), предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а автор заслуживает присуждения искомой степени по специальности 03.03.01 - физиология.

Официальный оппонент:
ведущий научный сотрудник
ФГБУН Института высшей нервной деятельности
и нейрофизиологии РАН,
доктор биологических наук



Малышев Алексей Юрьевич

27 февраля 2017 г.

Контактная информация:

Почтовый адрес: ИВНДиНФ РАН, 117485, Москва, ул. Бутлерова 5А
телефон: (916)540-6902, e-mail: malyshev@ihna.ru