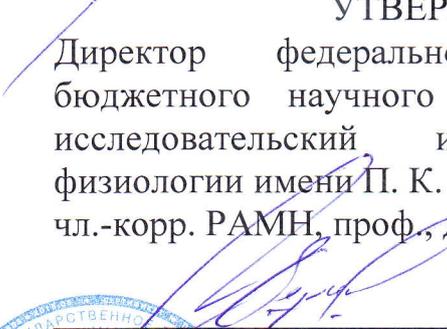


УТВЕРЖДАЮ

Директор федерального государственного
бюджетного научного учреждения «Научно-
исследовательский институт нормальной
физиологии имени П. К. Анохина»,
чл.-корр. РАН, проф., д.м.н.


Судаков С.К.


2018 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П. К. Анохина» на диссертационную работу Агрба Екатерины Александровны «Селективные свойства нейронных сетей первичных культур гиппокампа при низкочастотной электрической стимуляции», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология (биологические науки).

Актуальность темы диссертационного исследования. Мозг человека представляет собой сложнейшую систему из около сотни миллиардов нейронов, сотни триллионов связей и гиперрационального числа степеней свободы. И тем не менее, на повестке дня сегодняшней нейронауки стоит задача познания фундаментальных закономерностей его работы. К таким фундаментальным проблемам нейронауки относятся изучение колебательных процессов в нейронных системах мозга и выявление принципов получения, обработки, преобразования и передачи информации в мозге, а также соответствующие преобразования мозга на клеточно-сетевом и структурно-функциональном уровнях. Для этого современная нейронаука широко пользуется модельными системами – исследованием мозга различных видов животных, обладающих нервной сетью с меньшим количеством нейронов, чем нервная система человека, и тем не менее, работающей по тем же базисным информационным принципам. Однако и эти модельные организмы имеют трехмерные сложно устроенные и дифференцированные нервные системы, активность которых постоянно модулируется множественными непрерывными

влияниями внешней и внутренней среды. Учитывая эти усложняющие обстоятельства, определяющие недостаточную изученность сетевой пластичности и механизмов информационных функций нервной системы, особенно актуальными в последнее время становятся нейрофизиологические исследования организации и принципов функционирования более простых нервных сетей, получаемых в условиях культивирования популяций диссоциированных нервных клеток мозга млекопитающих *in vitro*. Диссертационная работа Е. А. Агрба выполнена именно на такой модели - первичной культуре нервных клеток гиппокампа мозга мышей, растущей на многоэлектродных зондах, позволяющих стимулировать и регистрировать активность образованной нервной сети. Использование этого передового подхода позволило поставить перед диссертационной работой ряд принципиальных вопросов фундаментальной нейробиологии, касающихся принципов получения, обработки, преобразования и передачи информации в нейронных сетях на клеточно-сетевом уровне. Важность этих проблем появления, распространения и обработки информации в нервной системе обусловлен не только стремлением получить новые фундаментальные знания о функциях мозга, но и перспективой создать искусственные интеллектуальные системы на основе закономерностей работы биологических нейронных сетей.

Основной целью работы было выявление и характеристику в составе нейронных сетей групп нейронов, обладающих свойством селективности в ответ на электрическую стимуляцию, а также изучение динамики селективных свойств нейронов в процессе развития первичной культуры гиппокампа *in vitro*. Это, безусловно, одни из центральных вопросов в изучении нейросетевых механизмов переработки информации в целом. Поэтому результаты этой работы Е. А. Агрба могут послужить важными дополнительными факторами в решении данной важной проблемы, а выполненное диссертационное исследование как с теоретической, так и с практической точек зрения, несомненно, является актуальным.

Обоснованность научных положений и выводов диссертации определяется хорошо продуманной структурой исследования, основывается на большом объеме экспериментальных данных, собранных диссертантом. Следует подчеркнуть, что работа выполнялась на протяжении достаточно длительного времени, превышающего традиционные сроки аспирантской работы. Это безусловно отразилось в высоком профессиональном уровне исследования, зрелости анализа и осмысления полученных данных. Достоверность полученных данных не вызывает сомнения, она обусловлена большим экспериментальным материалом, применением методов, адекватных поставленным задачам, и подтверждена корректно

проведенной статистической обработкой результатов. Выводы, полученные автором, логично соответствуют поставленной цели и задачам.

Научная новизна работы заключается в том, что Е. А. Агрба впервые обнаружено свойство групп нейронов в локальной сети генерировать статистически различимые последовательности импульсов в ответ на низкочастотную электрическую стимуляцию участков нейронной сети, названное автором *селективностью*. Это, безусловно, принципиальный результат, действительно заслуживающий введения нового термина. Е. А. Агрба также выявлено, что *селективность* является динамическим свойством группы нейронов в составе локальной сети и меняется в зависимости от периода развития первичной культуры гиппокампа *in vitro*. Автором также выявлено, что вызванное низкочастотной электрической стимуляцией направление распространения сигнала в локальной сети нейронов зависит от стимулируемого участка сети. Взаимосвязь между стимулируемым электродом и параметрами вызванного ответа указывает на способность простейшей нейронной сети *in vitro* выполнять информационную функцию — классифицировать внешний сигнал. Это новый, открытый Е. А. Агрба факт, и он существенно продвигает исследования информационного потенциала нейронных сетей *in vitro*.

Полученные диссертантом результаты имеют высокую как **научную, так и практическую значимость**. Прежде всего, они продвигают научное понимание закономерностей обработки, преобразования и передачи информации в нервных сетях. Обнаруженные свойства селективности ответов нейронных групп на внешние стимулы, и основанной на этом способности нервной сети первичной культуры диссоциированных клеток гиппокампа к классификации входного сигнала, выявляют важную функциональную особенность нейронных сетей *in vitro*, ведут к новым теоретическим заключениям и открывают перспективы для дальнейшей разработки этой проблематики в нейробиологических исследованиях.

В частности, выявленные закономерности функционирования нейронных сетей могут быть использованы при изучении механизмов регуляции сетевой активностью при действии внешних факторов. Кроме того, результаты, связанные с выявлением селективности нейронов в простейшей сети, позволят разработать новые модели искусственных нейронных сетей, что, в свою очередь, ведет к созданию нейрогибридных технологий управления нейронными сетями мозга, обеспечивающих сопряжение нейронных структур с электронными системами с целью замещения утраченных функций мозга в результате травм либо нейродегенеративных заболеваний.

Предложенная в работе методика поиска селективных нейронов может быть использована для создания биоинженерных технологий «мозг-на-чипе» с целью изучения и скрининга новых лекарственных препаратов, влияющих на нейрогенез, обучение, память в процессе доклинических исследований.

Структура и общая характеристика диссертации. Диссертация Е.А. Агрба написана по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, главы материалов и методов исследования, главы результатов исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 122 страницах, иллюстрирована 28 рисунками, список литературы включает 185 источника, в том числе 168 иностранных работ.

Во введении обоснована актуальность решаемой проблемы, ясно обозначены перспективные точки роста исследований, четко поставлены цель и задачи исследования, показана новизна диссертационной работы, ее фундаментальная и практическая ценность, сформулированы положения, выносимые на защиту, показан личный вклад автора на всех этапах выполнения работ.

Обзор литературы информативно и подробно освещает изучаемую проблему. Следует особо отметить сфокусированность обзора на наиболее фундаментальных проблемах принципов переработки информации в нейронных сетях, принципиальных для этого ключевых понятиях и сведениях о паттернах активности в нервной системе, пластичности нейронных сетей и ее формах, современных исследованиях свойств нейронных сетей клеток гиппокампа *in vitro*, подходах, использующих мультиэлектродные матрицы. Все это создает серьезный фон для последующего исследования, повышает общую планку диссертационной работы и позволяет диссертанту четко и логично, следуя за анализом общей проблемной ситуации и современных методических возможностей четко сформулировать задачи собственных исследований. Большой объем проработанного при этом литературного материала, уверенное оперирование им, свидетельствует о том, что автор вполне умело ориентируется в современной научной литературе по изучаемой теме.

Во второй главе (**материалы и методы**) дана краткая характеристика объектов исследования и достаточно подробное описание всех методов исследования, дающее ясное представление об условиях проведения опытов. Примененные электрофизиологические, иммуноцитохимические и статистические методы адекватны поставленным задачам и характеризуют широкий диапазон профессионального мастерства автора диссертационной работы.

В третьей главе изложены **собственные результаты**, их обсуждения и выводы из диссертационной работы. Здесь следует выделить четкую логику исследования и его изложения, строго следующую за поставленными в результате анализа литературы задачами и намеченными методическими подходами. Вначале Е.А. Агрба описывает результаты исследования формирования нейронной сети культуры клеток гиппокампа *in vitro* и основные закономерности эволюции биоэлектрической активности этой сети в развитии, что составляет необходимый этап и последующий фон для развертывания всех других частей работы. Здесь установлено, что развитие биоэлектрической активности таких культур проходит три этапа, охарактеризованы сроки этих этапов и типичные свойства нейронной активности на каждом из них - от простых форм спайковой активности в сложные формы пачечной и суперпачечной активности. Знание этих закономерностей позволяет автору уверенно осуществить экспериментальное изучение вызванного сетевого ответа нейронных сетей при стимуляции культуры, описанное в следующем разделе результатов, а также привязать выявленные особенности к стадиям процесса развития культур диссоциированных клеток гиппокампа. Главными результатами этой части диссертационной работы и являются впервые выявленные Е.А. Агрба способности групп нейронов в культуральной сети статистически значимо различать своим ответом низкочастотную электрическую стимуляцию различных участков нейронной сети – свойство, названное автором *селективностью* групп нейронов в составе нейронной сети первичных культур гиппокампа. Здесь же описаны важные экспериментальные результаты исследования ответов нейронной сети на низкочастотную стимуляцию, позволившие автору предложить критерии оценки селективности нейронов: 1). количество спайков в вызванных сетевых пачках, отражающих активность вовлечения нейронов в вызванную активность, и 2). времена возникновения первых синаптически вызванных спайков после стимула, отражающих путь распространения сигнала по нейронным сетям от источника стимуляции. Все данные хорошо проиллюстрированы рисунками.

В разделе **обсуждения** автором проведен анализ полученных результатов и их интерпретация в свете данных современной научной литературы. Осмысление собственных результатов в сопоставлении с мировой литературой и постоянным обращением к исходно поставленным перед работой целям и задачам логично подводит автора к разделу общего **заключения**. В нем кратко обобщены основные результаты исследования и делается наиболее принципиальное заключение всей работы – о способности групп нейронов в культивируемой сети классифицировать

внешние сигналы, поступающие в виде эклектической стимуляции различных участков этой сети. По результатам исследования автором сформулировано четыре **вывода**, которые соответствуют цели и задачам работы, являются логичными и аргументированными.

В целом диссертация представляет собой завершенное научное исследование, а ее оформление соответствует требованиям ВАК. Диссертационная работа написана хорошим литературным языком, легко читается, содержит достаточное количество иллюстраций.

Автореферат полностью отражает основное содержание диссертации. Материалы исследования были представлены и обсуждены на конференциях различного уровня. По теме диссертации опубликовано 46 работ, из них 5 статей в журналах, рекомендованных Перечнем ВАК РФ. В публикациях в достаточной мере изложены основные результаты и положения диссертационной работы.

В качестве ряда непринципиальных замечаний, скорее адресованных к дальнейшему развитию результатов этой отличной работы можно указать на следующие моменты.

1. Работа существенно выиграла бы от более глубокого анализ понятия «информации», применительно как к нервной системе *in vivo*, так и нейронным сетям *in vitro*. В диссертации этому уделено недостаточно значительное внимание. Между тем, проблема информации, сути и нейронального выражения этого процесса особенно остро стоит именно перед исследования *in vitro* культивируемых нейронных сетей. Следует ли рассматривать циркуляция сигналов при спонтанной активности культуры как информацию? Или же информацией описываются только отклонения от спонтанной активности, вызываемые внешними стимулами? Что является источником, каналом, и главное, каков «получатель» информации в спонтанно активной нейронной сети? Как можно измерить количество информации и пути ее распространения в условиях вызванной, а возможно и спонтанной активности культивируемой нейронной сети? В различных областях развития современной теории информации применительно к мозгу и нейронным сетям активно исследуются нейрофизиологические, теоретические и математические варианты решения этих вопросов. Можно порекомендовать автору обратить на это внимание.

2. Вопрос об информации, особенно с вопросами ее кодирования, обсуждаемыми в диссертации, тесно связаны с другой важной областью экспериментального и теоретического анализа, которая могла бы придать новое звучание ряду результатов работы, однако также недостаточно подробно раскрыта в

обсуждении результатов. Речь идет о феноменах спонтанной активности культивируемой нейронной сети и представлениях о ее реакции на стимулы и распространении этого «ответа». Здесь следует отметить, что сами представления о «кодировании» заранее заданы в нейрофизиологии методикой нанесения стимулов и односторонним учетом связи активности нейронных элементов сети лишь с параметрами стимула. Эти представления являются проявлением давней рефлекторной традиции классической нейрофизиологии. Однако именно на экспериментальной модели, используемой в диссертации автором, и демонстрирующей наличие спонтанной активности нейронной сети без каких-либо внешних воздействий, особенно ясно проявляется необходимость рассматривать так называемые «ответы», не как проведение сигнала по пассивной нервной сети, а смещение паттерна ее непрерывной спонтанной активности. Подобный парадигмальный сдвиг в нейронауке сегодня отчетливо проявляется в анализе информационных процессов в мозге *in vivo* с учетом активности так называемых «нейронных сетей состояния покоя» и можно порекомендовать автору обратить внимание на эти подходы и применительно к используемой им экспериментальной модели *in vitro*.

3. Наконец, недостаточное обсуждение на мой взгляд получил в работе выявленный факт, что селективное различие входного сигнала по показателям количества спайков времени возникновения первых синаптических спайков, осуществляют преимущественно разные группы нейронов. Только 4% групп нейронов классифицируют сигнал, используя оба параметра. Вместе с тем, как показывают рис. 26 и 27, эволюция этого процесса в развитии культуры имеет сходные фазы и динамику, что свидетельствует о возможной связанности этих показателей. Хотелось бы иметь более подробный анализ этого вопроса в разделе обсуждения результатов работы.

Как уже говорилось выше, вышесказанные замечания не носят принципиального характера, не снижают качества и высокой научной значимости рассматриваемого диссертационного исследования.

Заключение. Диссертационная работа Агрба Екатерины Александровны «Селективные свойства нейронных сетей первичных культур гиппокампа при низкочастотной электрической стимуляции» является законченной научно-квалификационной работой. В диссертации содержатся новые сведения, базирующиеся на современных методах исследований и математической обработки данных. Диссертационная работа выполнена самостоятельно, на высоком научно-

исследовательском уровне, что свидетельствует о значительном вкладе автора в теоретические и практические аспекты разрабатываемой темы.

Содержание диссертации соответствует специальности 03.03.01 – физиология (биологические науки). Результаты исследований, изложенные Е.А. Агрба в диссертационной работе, соответствуют «Положению о присуждении учёных степеней», утвержденному Постановлением правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 (ред. от 29.05.2017 г.) «О порядке присуждения учёных степеней», пп.9-14.

Основные научные результаты диссертации опубликованы в рецензируемых ВАК журналах, что соответствует пп. 11-13 Постановления Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 (ред. от 29.05.2017 г.) «О порядке присуждения учёных степеней» и Перечню рецензируемых изданий, размещенному на официальном сайте Высшей Аттестационной Комиссии (ВАК) при Министерстве образования и науки РФ.

Диссертация полностью соответствует критериям пп. 9-14 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 (ред. от 29.05.2017 г.) и включает все необходимые элементы научно-квалификационной работы уровня кандидата биологических наук.

Таким образом, диссертационная работа соответствует критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней, а ее автор Агрба Екатерина Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология (биологические науки).

Отзыв ведущей организации подготовлен чл.-корр. РАН, проф., д.м.н., зав. лаб. нейробиологии памяти ФГБУ НИИНФ РАМН Анохиным Константином Владимировичем, заслушан, одобрен и утвержден на заседании лаборатории Нейробиологии памяти ФГБНУ «НИИНФ им. П. К. Анохина», протокол № 17 от 5 сентября 2018 года.

Зав. лаб. нейробиологии
памяти ФГБУ НИИНФ
РАМН, чл.-корр. РАН,
проф., д.м.н.



Анохин Константин Владимирович

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П. К. Анохина» (ФГБНУ «НИИНФ им. П. К. Анохина»)

Адрес: 125315, г.Москва, ул. Балтийская, д. 8.

Тел.: +7 (495) 601-22-45.

E-mail: k.anokhin@nphys.ru, nphys@nphys.ru

10.09.2018

Подпись Анохина К.В. заверяю:



Начальник
ОТДЕЛА КАДРОВ
ЕРАШОВ О.Б.