

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 212.166.21,
СОЗДАНОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
АВТОНОМНОГО ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
НИЖЕГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМ. Н.И. ЛОБАЧЕВСКОГО» МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ
НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 20.12.2018 г. № 11

О присуждении Гладкову Арсению Андреевичу, гражданину РФ,
ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Динамика вызванной активности нейронной сети культуры диссоциированных клеток гиппокампа мышей при электрической стимуляции» по специальности **03.03.01 — физиология** принята к защите 11.10.2018, протокол №8, диссертационным советом Д 212.166.21, созданным на базе федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (603950, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23, приказ Минобрнауки РФ от 14 октября 2016 № 1256/нк).

Соискатель, Гладков Арсений Андреевич, 1988 года рождения. В 2011 г. Гладков Арсений Андреевич окончил магистратуру Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского по специальности «Экология и природопользование». В период с 2011 по 2014 г. освоил программу подготовки научно-педагогических кадров в очной аспирантуре государственного образовательного учреждения высшего профессионального

образования «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского» по специальности «Биофизика» (год окончания – 2014). В настоящее время Гладков Арсений Андреевич работает в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации» в должности младшего научного сотрудника.

Диссертация выполнена на кафедре нейротехнологий Института биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского» и в отделе молекулярно-клеточных технологий Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель — доктор биологических наук, профессор Мухина Ирина Васильевна, заведующая Центральной научно-исследовательской лабораторией и кафедрой нормальной физиологии им. Н. Ю. Беленкова Приволжского исследовательского медицинского университета, профессор кафедры нейротехнологий Института биологии и биомедицины ННГУ им. Н. И. Лобачевского.

Официальные оппоненты:

Кичигина Валентина Федоровна – доктор биологических наук по специальности 03.00.13 «Физиология человека и животных», заведующий лабораторией системной организации нейронов, федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук (ИТЭБ РАН), г. Пущино Московской обл.;

Шаронова Ирина Николаевна – доктор биологических наук по специальности 03.03.06 – «Нейробиология», ведущий научный сотрудник, лаборатория функциональной синаптологии, отдел исследований мозга,

федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр неврологии» (ФГБНУ НЦН), г. Москва;

дали положительные отзывы на диссертацию.

В положительном отзыве официального оппонента д.б.н. Кичигиной Валентины Федоровны отмечено, что диссертация представляет собой завершённую научно-исследовательскую работу на актуальную тему. Литературный обзор и Обсуждение включают необходимые сведения, касающиеся работы, и дают достаточный сравнительный анализ полученных результатов. Выводы достаточно обоснованы. Работа соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842, а ее автор заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата наук по специальности 03.03.01 – «Физиология».

В отзыве отмечено, что серьезных недостатков в диссертации не обнаружено. В качестве замечаний отмечено следующее:

1. В диссертации могло бы больше внимания уделяться морфологическим исследованиям. В ней отсутствует детальное описание путей, формируемых во время культивирования при использовании микрофлюидного чипа; не описана специфика связей между нейронами гиппокампа, имеющими определённую нейрхимию, т.е. возбуждающими пирамидными нейронами и различными тормозными клетками (интернейронами). В то же время, это важно при оценке характера регистрируемой активности (отличающейся от активности гиппокампа *in vivo*) и условий для возникающей в нейронной сети пластичности.

2. Непонятно, почему иммуноцитохимическое исследование проводили лишь на 6-й день развития культуры нервных клеток, в то время как электрофизиологические опыты проведены после 3-х недель развития.

3. При статистической обработке результатов использовался непараметрический критерий Манна-Уитни; при этом большинство данных представлялось как среднее $\pm$ среднеквадратичное отклонение, что не вполне

корректно, поскольку в данном случае оценивается медиана, а не среднее значение.

В положительном отзыве официального оппонента д.б.н. Шароновой Ирины Николаевны отмечено, что тема диссертационного исследования Гладкова Арсения Андреевича «Динамика вызванной активности нейронной сети культуры диссоциированных клеток гиппокампа мышей при электрической стимуляции» полностью соответствует заявленной специальности 03.03.01 – физиология. Сама диссертационная работа Гладкова А.А., представленная на соискание учёной степени кандидата биологических наук, является законченной научно-квалификационной работой, которая содержит новое решение актуальной задачи в области физиологии, а также расширяет и дополняет современные знания о механизмах памяти и нейропластичности. По актуальности, поставленным целям и задачам, объёму проведённых исследований, новизне полученных результатов, их научной и практической значимости, методическому уровню исследований, достоверности полученных результатов, обоснованности выводов и положений, выносимых на защиту, выполненная диссертационная работа полностью соответствует требованиям, изложенным в разделе II «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к диссертационным работам на соискание учёной степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени по специальности 03.03.01 – «Физиология».

В качестве замечаний отмечено следующее:

1. В тексте диссертации и в автореферате встречаются опечатки и неточности, как, например, на с. 46 – «Амплитуда найденных импульсов находилась в диапазоне 10-100 мВ». Судя по приведённому рисунку, амплитуда импульсов составляла 10-100 мкВ. На с. 59 использовано неудачное выражение «экспериментально рассчитано» и др.

2. В работе недостаточно полно охарактеризована пространственно-временная структура культуры нейронов гиппокампа. Приведена всего одна микрофотография клеточной культуры на матрице, по-видимому, на раннем сроке культивирования (рис. 4, DIV не указаны). Нет данных о плотности культуры, соотношении нервных и глиальных клеток, изменениях пространственной структуры нервной ткани – формировании кластеров и т.п.

3. Встречаются неточные ссылки, как например, на работу Chiappalone et al., 2007, выполненную на нейронах коры, а не гиппокампа, как указано в тексте работы.

4. При упоминании в тексте работы российских авторов на русском языке следует указывать кроме фамилии инициалы (стр. 39).

В качестве вопросов отмечено следующее:

1. Основным типом нейронной активности, анализируемой в работе, является пачечная активность нейронов и нейронных популяций. И хотя даётся общепринятое определение такой активности, не совсем ясно, какова природа этой пачечной активности, какова роль свойств возбудимой мембраны и синаптических связей в её формировании и каким видам активности мозга *in vivo* соответствует сетевая пачечная активность на матрицах.

2. Не вызывает сомнений, что ритмическая активность мозга играет большую роль в организации определённых форм поведения, но это лишь одна из форм спонтанной активности нейронов. Каково соотношение сетевой пачечной активности и одиночных разрядов нейронов в сети, формирующейся в условиях культивирования?

3. Электрическая активность, регистрируемая одним электродом на матрице, может отражать спайковую активность нескольких нейронов. Разная амплитуда спайков внутри пачки затрудняет разделение активности разных нейронов на основании различий их амплитуды. Имеются ли дополнительные критерии и техническая возможность разделения

активности разных нейронов и имеет ли это принципиальное значение при анализе сетевой активности?

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П. К. Анохина», г. Москва, в своем положительном отзыве, подписанном **Анохиным Константином Владимировичем**, чл.-корр. РАН, проф., д.м.н., зав. лаб. нейробиологии памяти, указала, что диссертационная работа Гладкова Арсения Андреевича «Динамика вызванной активности нейронной сети культуры диссоциированных клеток гиппокампа мышей при электрической стимуляции» является законченной научно-квалификационной работой. В диссертации содержатся новые сведения, основанные на современных методах исследований и математической обработки данных. Диссертационная работа выполнена самостоятельно на высоком научно-исследовательском уровне, что свидетельствует о значительном вкладе автора в решение актуальной научной проблемы в области физиологии - выявление закономерностей пластичности в нейронной сети. Содержание диссертации соответствует специальности 03.03.01 – физиология (биологические науки). Результаты исследований, изложенные в диссертационной работе, соответствуют пп.9-14 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842 (ред. от 29.05.2017 г.).

Основные научные результаты диссертации опубликованы в рекомендованных 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».

Диссертация полностью соответствует критериям пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842 (ред. от 29.05.2017 г.) и включает все необходимые элементы научно-квалификационной работы

уровня кандидата биологических наук, а ее автор Гладков Арсений Андреевич заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата наук по специальности 03.03.01 – «Физиология».

В качестве непринципиальных замечаний, адресованных скорее к дальнейшему развитию исследования, отмечено следующее:

1. В настоящей диссертационной работе присутствует как бы два разных идеологических полюса. С одной стороны, автор вполне обоснованно заявляет свою приверженность системному сетевому подходу в понимании функций пластичности, обучения и памяти в нервной системе: «к настоящему времени сложилось понимание, что информационные функции мозга определяются свойствами нейронной сети, а не отдельных клеток» (с. 13). Об этом же свидетельствует и само название диссертации посвященной именно сетевым закономерностям пластичности нейронных связей. И действительно, современные тренды изучения долговременной пластичности в нервной системе помещают эти вопросы в контекст формирования распределенного нейронного следа памяти – энграммы (см. например Josselyn et al., Finding engram. *Nat Rev Neurosci.*, 2015; 16: 521-534). С другой стороны, при обсуждении результатов экспериментальной части работы те или иные сетевые изменения в результате воздействий рассматриваются автором скорее как негативные факторы экспериментальных моделей, их недостатки, которые следовало бы устранить в более адекватных моделях: «Несмотря на воспроизводимость феномена достижения заданного уровня активности на основе стимуляции с обратной связью нейронных сетей первичной культуры гиппокампа в результате работы были выявлены следующие проблемы: ... Вызванный электрической стимуляцией эффект изменения импульсной активности наблюдался на всей сети, а не только на выбранном участке сети. Все эти выявленные недостатки протокола индукции заданного уровня активности не позволяли использовать данный протокол в качестве надёжной экспериментальной модели изучения вызванной стимуляцией пластичности в нейронной сети со случайной

архитектурой связей *in vitro* (с 88-89). Было бы ценным сопоставить эти две различные концептуальные установки, проявляющиеся в разных частях работы, очертить их различия, оценить вытекающие из каждой из них особенности, достоинства и недостатки методических подходов к изучению пластичности нейронных сетей в культурах диссоциированных клеток.

2. Первый вопрос имеет и другое продолжение. Рассматривая недостатки методики индукции пластичности в нейронной сети со случайной архитектурой связей, в том числе и системные изменения во всей нейронной сети, автор отдает предпочтение модели нейронной сети с заданной направленной функциональной связью. Однако, как показывают экспериментальные данные (с. 93-95, рис. 26 и 27), в этих культурах как спонтанные, так и вызванные пачки импульсов распространялись преимущественно в одном направлении в обратном же направлении распространялось менее 20% сетевых пачек. В то же время известно, что одним из важных условий формирования энграммы в нервной системе *in vivo* является наличие прямых и обратных связей, систем повторного входа (*reentry*), механизмы реверберации, рекуррентного процессинга, которые, в частности, вовлекают необходимые для инициации долговременной пластичности NMDA глутаматные рецепторы. Не будет ли низкая представленность такого рода связей и механизмов процессинга информации препятствовать формированию биологически реалистичной пластичности в *in vitro* системах с заданной направленной функциональной связью?

3. Автором был найден удачный прием повышения индукции пластичности в нейронной сети со случайной архитектурой связей, при котором адаптивный результат успешно достигался при использовании в модели индукции заданного уровня активности участков нейронной сети с относительно низкой исходной активностью. Однако перспективы использования такого подхода в дальнейших исследованиях в диссертации не обсуждаются. В связи с этим возникает вопрос - является ли по мнению автора этот прием одним из многообещающих новых способов индукции

пластичности в нейронной сети со случайной архитектурой связей, который бы смог «выручить» это направление исследований?

4. Согласно данным настоящей работы, также как и в исходных экспериментах Шахава и Марома, лишь около 50% экспериментов давали достижение заданного уровня требуемой активности. Автор справедливо рассматривает это как один из недостатков данной модели индукции пластичности. Однако конструктивным было бы также обсуждение и двух связанных с этим вопросов: а) возможность последующей работы и на таком проценте успешных случаев, особенно с учетом п. 3 (см выше) и б) обсуждение и анализ причин, по которым в 50% экспериментальных ситуаций эффект все же развивается (см. рис. 22). Известно, что и в ряде моделей обучения *in vivo* наблюдается существенная индивидуальная вариация в возможности достижения животным заданного критерия результата. Однако, именно случаи успешного обучения становятся далее объектом экспериментального исследования соответствующих нервных механизмов. Возможно, такой же подход мог бы оказаться рабочим и для индукции пластических изменений при протоколах с обратной связью в клеточных сетях *in vitro*?

5. В работе было установлено, что эффективным критерием для оценки функциональных изменений в нейронной сети оказался параметр «коэффициента изменения архитектуры связей», выявивший изменения как после низкочастотной, так и после высокочастотной стимуляции (рис. 20 Г). В работе 1e Feber et al., Repeated stimulation of cultured networks of rat cortical neurons induces parallel memory trace. Learn Mem. 2015; 22(12): 594-603 использовался еще один критерий изменения связанности в нейронной сети *in vitro* «эвклидово расстояние между матрицами силы связей для всех пар регистрирующих электродов до и после стимуляции». С его помощью было выявлено изменение этого показателя как после низкочастотной стимуляции (0.2 Гц, на протяжении 15 мин), так и после высокочастотной тетанической стимуляции (100 Гц, 10 стимуляцией с интервалом 5 сек на протяжении 10-

15 мин) (le Feber et al., 2015). В связи с этим полезно было бы более подробно обсудить сравнительные особенности, различия, достоинства и недостатки этих двух критериев.

6. В работе есть отдельные незначительные неточности или опечатки, которые безусловно неизбежны при оформлении результатов такого большого исследования, но никак не влияют на суть диссертационной работы.

Соискатель имеет 40 опубликованных работ по теме диссертации, из них 8 публикаций в рецензируемых научных изданиях, включённых в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты на соискание ученой степени кандидата биологических наук, 2 статьи в других изданиях, 25 тезисов конференций, 4 патента и 1 свидетельство о государственной регистрации программы ЭВМ. Опубликованные работы посвящены исследованию динамики вызванной активности нейронной сети гиппокампа *in vitro* со случайной и упорядоченной архитектурой морфофункциональных связей и изменения функционального состояния сетей культуры нейронов при электрической стимуляции. Опубликованные работы в полной мере отражают результаты диссертационного исследования.

Общий объем научных изданий по теме диссертации составляет 103 страницы, а авторский вклад соискателя составляет более 80 %. Недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, в диссертации Гладкова А.А. отсутствуют.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Пимашкин, А.С. Модель обучения нейронных сетей в культурах клеток гиппокампа *in vitro* / А.С. Пимашкин, А.А. Гладков, И.В. Мухина, М.С. Бурцев, В.А. Ильин, В.Б. Казанцев // Математическая биология и биоинформатика. — 2012. — Т. 7, № 2. — С. 545–553.

2. Pimashkin, A. Adaptive enhancement of learning protocol in hippocampal cultured networks grown on multielectrode arrays / A. Pimashkin, A. Gladkov, I. Mukhina, V. Kazantsev // *Frontiers in Neural Circuits*. — 2013. — Vol. 7. — P. 1–9.

3. Malishev, E. Microfluidic device for unidirectional axon growth / E. Malishev, A. Pimashkin, A. Gladkov, Y. Pigareva, A. Bukatin, V. Kazantsev, I. Mukhina, M. Dubina // *Journal of Physics: Conference Series*. — 2015. — Vol. 643. — P. 1–6.

4. Pimashkin, A. Selectivity of stimulus induced responses in cultured hippocampal networks on microelectrode arrays / A. Pimashkin, A. Gladkov, E. Agrba, I. Mukhina, V. Kazantsev // *Cognitive Neurodynamics*. — 2016. — Vol.10, №4. — P. 287–299.

5. Pigareva, Y. Neural signal registration and analysis of axons grown in microchannels / Y. Pigareva, E. Malishev, A. Gladkov, V. Kolpakov, A. Bukatin, I. Mukhina, V. Kazantsev, A. Pimashkin // *Journal of Physics: Conference Series*. — 2016. — Vol. 741. — P. 1–6.

6. Gladkov, A. Design of Cultured Neuron Networks in vitro with Predefined Connectivity Using Asymmetric Microfluidic Channels / A. Gladkov, Y. Pigareva, D. Kutyina, V. Kolpakov, A. Bukatin, I. Mukhina, V. Kazantsev, A. Pimashkin // *Scientific Reports*. — 2017. — Vol. 15, №7(1):15625. doi: 10.1038/s41598-017-15506-2.

7. Гладков, А.А. Функциональная структура связей в диссоциированной культуре гиппокампа, выращиваемой на микроэлектродной матрице / А.А. Гладков, В.Н. Колпаков, Я.И. Пигарева, И.В. Мухина, В.Б. Казанцев, А.С. Пимашкин // *Современные технологии в медицине*. — 2017. — Т.9, №2. — С. 61-67.

8. Гладков, А.А. Метод изучения вызванной стимулом пластичности в нейронных сетях на основе культивирования клеток мозга в микрофлюидных чипах / А.А. Гладков, В.Н. Колпаков, Я.И. Пигарева, А.С. Букатин, В.Б.

Казанцев, И.В. Мухина, А.С. Пимашкин // Современные технологии в медицине. — 2017. — Т.9, №4. С.15-24.

Указанные публикации входят в перечень ВАК или международные реферативные базы данных и системы цитирования Web of Science и Scopus.

На диссертацию и автореферат поступило 3 отзыва, все положительные, без замечаний. В отзывах указывается, что представляемая работа характеризуется высоким теоретическим и экспериментальным уровнем, по своей новизне и актуальности имеет большое научное и практическое значение, соответствует требованиям Высшей аттестационной комиссии. Отзывы получены из:

1. ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого» за подписью доктора медицинских наук, профессора, главного научного сотрудника и руководителя НИИ молекулярной медицины и патобиохимии, заведующего кафедрой биологической химии с курсом медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, проректора по инновационному развитию и международной деятельности **Салминой Аллы Борисовны**, без замечаний;
2. ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» за подписью доктора биологических наук, профессора, заведующего кафедрой физиологии человека и животных Института фундаментальной медицины и биологии **Ситдиковой Гузели Фаритовны**, без замечаний;
3. ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» за подписью кандидата биологических наук, ведущего научного сотрудника **Берегового Николая Алексеевича**, без замечаний;

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их соответствием критериям требований, изложенных в пп. 22 и 24 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842, которые являются компетентными по заявленной в диссертации соискателя

специальности, имеют профильные публикации по проблеме диссертационного исследования и способны объективно оценивать актуальность темы диссертации, а также достоверность, теоретическую значимость и научно-практическую ценность полученных в работе результатов (сведения о них размещены на официальном сайте ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского»: <https://diss.unn.ru/867>).

Диссертационный совет отмечает, что в результате выполненных соискателем исследований:

- **разработаны** новые чувствительные индикаторы изменений активности нейронов в сети, отражающие изменение архитектуры связей между временными последовательностями импульсов различных участков нейронной сети, культивируемой *in vitro*;

- **выявлено** влияние электрической стимуляции на изменение архитектуры функциональных связей в нейронной сети, культивируемой *in vitro*;

- **доказана** возможность достижения заданного уровня активности в нейронных сетях первичных культур гиппокампа со случайной архитектурой морфофункциональных связей при применении протокола стимуляции с обратной связью;

- **разработан** способ индукции пластичности в нейронной сети культуры диссоциированных клеток гиппокампа с направленной архитектурой морфофункциональных связей с помощью электрической стимуляции на основе правила STDP.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- **обоснованы** использованные автором методы электрофизиологической регистрации и стимуляции биоэлектрической активности нейронных сетей, вносящие вклад в расширение представлений об изучаемых физиологических процессах в головном мозге; применительно

к проблематике диссертации результативно использованы разработанные в ходе работы индикаторы изменений активности нейронов в сети;

- **изложены** теоретические положения, существенно дополняющие современную базу данных новыми научными сведениями в вопросе сетевой пластичности, а также о соответствующих преобразованиях на клеточно-сетевом и структурно-функциональном уровнях;

- **раскрыта** способность нейронных сетей изменять биоэлектрическую активность в ответ на внешние низкочастотные и высокочастотные электрические стимулы, которая выражается в реорганизации кросскорреляционных связей между активностью, регистрируемой в различных участках сети;

- **изучена** возможность достижения заданного уровня активности в нейронных сетях первичных культур гиппокампа со случайной архитектурой морфофункциональных связей при применении протокола стимуляции с обратной связью; заданного уровня активности успешно достигали лишь участки нейронной сети с относительно низкой исходной активностью; в результате стимуляции с обратной связью изменялась активности всей сети, а не отдельно на выбранном участке нейронной сети;

- **охарактеризованы** численные параметры, достоверно подтверждающие формирование однонаправленной связи между двумя популяциями культивируемых клеток гиппокампа, связанных аксонами, растущими в ассиметричных микроканалах разработанного чипа.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

- **разработаны** и апробированы методики анализа биоэлектрической сетевой активности для выявления и характеристики эффекта пластичности в нейронной сети клеток гиппокампа с неупорядоченной архитектурой связей *in vitro*;

- **разработан** способ стимуляции с обратной связью для достижения заданного уровня активности, позволяющий использовать для обратной

связи большее количество участков нейронной сети по сравнению с ранее известными способами;

- **разработан** ассиметричный дизайн микроканалов чипа для формирования преимущественно однонаправленного распространения сетевого сигнала от одной популяции клеток гиппокампа *in vitro* к другой;

- **разработан** способ индукции пластичности в нейронной сети культуры диссоциированных клеток гиппокампа с направленной архитектурой морфофункциональных связей с помощью электрической стимуляции областей, соответствующих расположению пресинаптических и постсинаптических нейронов, формирующих направленную связь между двумя подсетями;

- **выявлены** закономерности функционирования нейронных сетей, которые могут быть использованы при изучении механизмов регуляции сетевой активности при действии внешних факторов и разработке новых моделей искусственных нейронных сетей;

- **внедрены** сформулированные в диссертационной работе научные положения и выводы которые лягут в основу разработки новых и модификации имеющихся общих и специальных курсов для студентов и аспирантов биологических и медицинских специальностей;

- **определены** перспективы использования предложенных подходов по изучению биоэлектрической активности в культурах диссоциированных клеток гиппокампа; разработанная экспериментальная модель на основе микрофлюидных чипов и микроэлектродных матриц может широко использоваться в изучении синаптической пластичности на нейросетевом уровне, динамики нейронных сетей с реалистичной морфологией связей и межклеточных взаимодействий.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

- для экспериментальных работ использованы современные методы и технические средства для получения и обработки данных на основе компьютерных технологий, которые получены на сертифицированном

оборудовании, аттестованные измерительные средства, показана воспроизводимость результатов исследований, выполненных по предложенным методикам;

- **теория** работы построена в русле расширения существующей концепции о системном сетевом уровне понимания функций пластичности обучения и памяти в нервной системе и согласуется с опубликованными данными по теме диссертации;

- **идея** базируется на анализе мировой практики и обобщении передового опыта о сущности, механизмах и закономерностях синаптической пластичности, пластичности на уровне нейронной сети и особенностях функционирования нейронных сетей в процессе их развития;

- **использованы** применительно к изучаемой проблематике диссертации стандартные базовые методы сбора и статистического анализа экспериментальных данных;

- **установлено**, что результаты работы не противоречат современным знаниям в области нейрофизиологии, согласуются с данными других авторов, дополняют и расширяют их, а также прошли апробацию во время обсуждения на международных, общероссийских и региональных научно-практических конференциях, объем исследования достаточен для получения детальной и объективной информации, необходимой для обоснования выводов и положений;

- **использованы** современные методы регистрации электрофизиологической активности и анализа полученных данных в 43 сериях научных исследований на сертифицированном лабораторном оборудовании.

Личный вклад соискателя состоит в участии в проведении работы на всех этапах её выполнения, включая освоение новых методов анализа многоканальных данных электрофизиологической активности, методов культивирования нервных клеток в чипах с микроканалами, совмещёнными с микроэлектродными матрицами, подготовку и выполнение

экспериментальных исследований, сбор и обработку полученных результатов, их анализ и обсуждение, а также подготовку научных статей и представление результатов на конференциях.

Диссертация является целостным, законченным научным исследованием, охватывает основные вопросы поставленной научной проблемы и соответствует критериям внутреннего единства, что подтверждается четкой логикой и соответствующей содержанию работы структурой исследования, формулировками цели работы и выводов на основании полученных результатов. Диссертация соответствует требованиям пунктов 9–11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842.

На заседании 20 декабря 2018 г. диссертационный совет принял решение присудить Гладкову А.А. ученую степень кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 15 человек, из них 8 докторов наук по специальности 03.03.01 – физиология, участвовавших в заседании, из 22 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 0 человек, проголосовали: за 15, против 0, недействительных бюллетеней 0.

Председатель

диссертационного совета

Воденеев Владимир Анатольевич

Ученый секретарь

диссертационного совета

Соколова Евгения Александровна

20 декабря 2018 г.