

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Пигаревой Яны Игоревны
«Закономерности межсетевого взаимодействия в нейрофизиологической
модели однонаправленно связанных нейронных сетей *in vitro*»,
представленную в диссертационный совет на соискание ученой
степени кандидата биологических наук по специальности
1.5.5 — «Физиология человека и животных»

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Я.И. Пигаревой посвящена одной из наиболее актуальных тем физиологии центральной нервной системы – изучению механизмов взаимодействия нейронных сетей мозга. Несмотря на значительный прогресс, достигнутый в области исследования клеточно-молекулярных механизмов функционирования головного мозга в норме и при патологии, по-прежнему не расшифрованными остаются процессы, сопряженные с оценкой функционирования клеток нейрональной природы при формировании нейронных сетей и их взаимодействия. Это обусловлено как технологическими причинами (сложность воспроизведения нейронных сетей *in vitro* или их идентификации *in vivo*), так и фактическим отсутствием информации о том, как реализуется феномен пластичности мозга на уровне отдельных или взаимодействующих друг с другом нейронных сетей.

В связи с этим, диссертационное исследование Я.И. Пигаревой, ориентированное на изучение распространения спонтанной биоэлектрической активности в нейронных сетях *in vitro* в модели однонаправленно связанных сетей, с учетом собственной активности и структуры сетей, является, несомненно актуальным, интересным и перспективным для дальнейшего развития. Эта работа важна еще и потому, что в ней закладываются новые подходы к формированию однонаправленной функциональной связи между несколькими нейронными подсетями, что существенно для детализации механизмов обработки информации в головном мозге и разработки новых инженерных решений при моделировании ткани головного мозга *in vitro*.

Новизна проведенных исследований и полученных результатов

В работе получены новые фундаментальные знания об особенностях навигации аксонов и проведения сигнала между двумя однонаправленно связанными нейронными сетями, характеристиках спонтанной активности локальных нейронных сетей, влияющих на функциональное взаимодействие в модульной сети. Убедительно показано, что применение микрофлюидных технологий со специальным образом подобранной архитектурой микроканалов актуально для воспроизведения *in vitro* нейронных сетей с заданным характером взаимодействия, которое может быть оценено путем регистрации активности клеток с использованием микроэлектродных матриц.

К наиболее интересным и отличающимся существенной новизной научным результатам работы можно отнести следующие: а) разработка конфигурации микроканалов микрофлюидного чипа (мульти сегментарный асимметричный тип) для обеспечения направленного роста аксонов нейронов *in vitro* и выявление особенностей роста аксонов в таких микроканалах (с наличием сегментов-«ловушек»); б) оценка функциональной компетентности сформированных синаптических контактов между локальными сетями *in vitro*, в том числе при исходно высоком количестве сопряженных сетей; в) влияние спонтанной активности нейронных сетей на эффективность их взаимодействия; г) вовлеченность ГАМКергической сигнализации в регуляцию межсетевого взаимодействия.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов, сформулированных в диссертации

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, представленных в работе Я.И. Пигаревой, обусловлены следующими аспектами: а) использование современных исследовательских протоколов и методов; б) применение различных, в том числе альтернативных, вариантов решения научных задач, например, при выборе

оптимальной топологии микроканалов микрофлюидного чипа; в) сочетание нескольких подходов к оценке характера и эффективности формирования межсетевых связей (анализ морфологии, молекулярное профилирование, нейрофизиологический анализ, фармакологическая модуляция); г) применение современного математического аппарата для анализа данных; д) интерпретация полученных результатов с использованием современной литературы; е) контроль качества выполнения экспериментов (контрольные серии).

Все положения и выводы диссертационной работы сформулированы на основе полученных результатов и отвечают поставленным задачам.

Результаты исследований представлены на 9 международных конференциях и школах. Автором опубликованы 13 печатных работ, в том числе 3 статьи в рецензируемых научных журналах (Web of Science, Scopus), 9 тезисов в сборниках докладов научных конференций, получен 1 патент РФ на изобретение по профилю диссертационной работы.

Таким образом, диссертация содержит новые, интересные, оригинальные и достоверные результаты, которые корректно проанализированы и представлены научному сообществу.

Значимость выводов и рекомендаций для науки и практики

Теоретическая значимость выполненного исследования связана с получением новых данных о фундаментальных механизмах функционирования нейронных сетей, их взаимодействия друг с другом, влиянии активности отдельных сетей на межсетевую коммуникацию, в том числе с участием ГАМКергических механизмов.

Практическая значимость полученных результатов обусловлена разработкой нового подхода к моделированию *in vitro* односторонне связанных нейронных сетей, характеризующихся образованием функционально компетентных синаптических контактов. Важным является то, что автором разработаны критерии эффективности морфологической и

функциональной сопряженности между локальными сетями в общей нейросети, которые могут быть применены для изучения физиологических механизмов обработки информации мозгом на сетевом уровне.

Рекомендации по использованию результатов и выводов

Полученные результаты могут быть рекомендованы к применению в физиологии и патофизиологии (при изучении механизмов функционирования клеток головного мозга в норме и при патологии, в том числе в контексте нейропластичности, при создании новых *in vitro* клеточных моделей), в нейробиологии и нейрофармакологии (при разработке и скрининге лекарств-кандидатов – модуляторов синаптической активности), в тканевой инженерии и биоинженерии (при создании микрофлюидных чипов, пригодных для воспроизведения межклеточных взаимодействий, в том числе в формате микрофизиологических систем), в высшем образовании в области биологии и медицины. Все указанные направления использования результатов диссертационного исследования Я.И. Пигаревой могут быть реализованы в образовательных учреждениях и научных центрах Российской Федерации.

Оценка содержания диссертации в целом. Диссертация изложена на 152 страницах текста, включает 45 рисунков, содержит следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты и их обсуждение, заключение, выводы, список процитированной литературы. Список литературы содержит 169 источников.

Во «Введении» обоснована актуальность исследований по теме диссертации, сформулированы цель и задачи диссертационной работы, научная новизна, теоретическая и практическая значимость полученных результатов, основные положения, выносимые на защиту, личный вклад автора в получение результатов, их апробация, приведено число публикаций по представленным в диссертации данным.

В «Обзоре литературы» автором представлен глубокий анализ работ отечественных и зарубежных авторов по теме диссертации, в том числе с достаточной степенью детализации рассмотрены экспериментальные модели для изучения функциональных характеристик нейронных сетей и биоинженерные подходы к моделированию сложных нейронных сетей, состоящих из нескольких подсетей. Особое внимание уделено возможности управления навигацией аксонов для формирования направленных связей между нейронными сетями.

В главе «Материалы и методы исследования» подробно и последовательно охарактеризованы все использованные методы и протоколы. Дизайн работы изложен четко и понятно, существенную часть описания в этой главе занимает блок по математическому анализу данных.

В главе «Результаты и их обсуждение» представлены данные, полученные в ходе выполнения работы, а также их авторская интерпретация. Характер изложения результатов позволяет в полной мере оценить масштаб выполненных работ, скрупулезность автора при решении вопросов моделирования межсетевых взаимодействий *in vitro*, а также логику поиска критериев создания модели направленно связанных нейронных сетей. В этой главе оценена степень соответствия полученных результатов работам, выполненным в ведущих мировых центрах по данной проблематике, а также формулируются некоторые предположения, проверка которых может быть основой для дальнейшего развития исследований. Следует отметить высокий уровень анализа полученных данных.

В главе «Заключение» резюмируются полученные результаты, в диссертации сформулированы 3 вывода.

Содержание автореферата соответствует содержанию диссертации, он хорошо иллюстрирован и изложен логично.

Таким образом, диссертация Я.И. Пигаревой производит позитивное и целостное впечатление, однако при знакомстве с работой возникли

следующие замечания и комментарии:

1. Удивляет отсутствие практических рекомендаций в заключительной части работы, которые могли бы быть легко сформулированы, в том числе с учетом большого блока выполненных работ по поиску оптимальной микроархитектуры чипа.
2. В тексте встречаются единичные грамматические и пунктуационные ошибки. Некоторые подписи к рисункам (например, рис. 9) избыточно подробные и детализированные.
3. Отдельные утверждения автора, например, «построение коры мозга и мозжечка происходит при участии радиальной глии, выступающей в качестве опоры для перемещения нейронов» (с. 68) носят весьма спорный характер (вероятно, в силу некорректной стилистики).
4. Глава «Заключение» могла бы быть дополнена резюмирующей схемой или рисунком, иллюстрирующим выявленные автором закономерности формирования, развития и взаимодействия нейронных сетей в использованной модели *in vitro*.

Однако все указанные замечания относятся в большей степени к оформлению работы и не влияют на сугубо положительное впечатление от диссертации.

В порядке научной дискуссии хотелось бы задать автору **следующие вопросы:**

1. Насколько возможно, по мнению автора, экстраполировать полученные результаты на условия *in vivo*, в том числе в развивающемся или стареющем головном мозге?
2. Почему в своих исследованиях автор не использовал возможность микрофлюидных технологий для создания градиента концентрации гуморальных регуляторных факторов, влияющих на нейритогенез?
3. Каков личный вклад автора в разработку дизайна и изготовление чипов, использованных в работе?

4. Насколько может быть значим, по мнению автора, вклад клеток глиальной природы в модификацию выявленных механизмов формирования и взаимодействия нейронных сетей?

Заключение

Диссертация Пигаревой Яны Игоревны «Закономерности межсетевого взаимодействия в нейрофизиологической модели однонаправленно связанных нейронных сетей *in vitro*», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. – «Физиология человека и животных», является завершенной научно-квалификационной работой, выполненной с помощью современных методов и решающей важную научную задачу расшифровки механизмов межклеточных взаимодействий в ткани головного мозга, определяющих его пластичность, развитие и эффективность обработки информации.

Работа соответствует паспорту научной специальности 1.5.5. – «Физиология человека и животных», в частности, п. 2 (молекулярная и интегративная организация физиологических функций), п. 6 (системная организация физиологических функций на уровне клеток, тканей, органов и целого организма), п. 8 (физиологические основы высшей нервной деятельности у животных и психической деятельности человека), п. 12 (разработка новых методов исследований функций животных и человека).

Считаю, что диссертация Пигаревой Яны Игоревны «Закономерности межсетевого взаимодействия в нейрофизиологической модели однонаправленно связанных нейронных сетей *in vitro*» по своей новизне, актуальности, методическому уровню, теоретической значимости и практической ценности полученных результатов полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации № 335 от 21.04.2016 г., № 748 от

Согласна на сбор, обработку, хранение и размещение в сети «Интернет» персональных данных (в соответствии с Приказом Минобрнауки России № 1 от 9 января 2020 г.), необходимых для работы Диссертационного совета 24.2.340.06.

Главный научный сотрудник и заведующий
лабораторией нейробиологии и тканевой инженерии,
заместитель директора Института мозга
федерального государственного бюджетного
научного учреждения «Научный центр неврологии»,
доктор медицинских наук (3.3.3 – патологическая физиология),
профессор

 Алла Борисовна Салмина

Подпись доктора медицинских наук, профессора Салминой А.Б.
удостоверяю:

Дмитрий Владимирович Сергеев

« 12 » марта 2025 г.

