

Отзыв

официального оппонента

на диссертацию Вещицкого Александра Александровича

«Исследование морфофункциональной архитектуры сенсомоторных нейронных сетей спинного мозга кошки, обеспечивающих ходьбу в разных направлениях», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальностям: 03.03.01 – физиология
03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Актуальность исследования. Диссертационная работа Вещицкого А.А. посвящена изучению морфофункциональной организации нейронных сетей спинного мозга кошки, контролирующей ходьбу в направлении вперед и назад. На данный момент накоплено множество физиологических и морфологических данных, связанных с наземной локомоцией млекопитающих. Однако, в подавляющем большинстве таких работ, основной акцент сделан на перемещении животного только в направлении вперед. Движение назад представляет собой значительно реже используемый и, при этом, уникальный тип локомоции, необходимый животному в исключительных ситуациях. Работа спинальных мото-нейронных сетей при таком виде автоматической ходьбы практически не изучена, и может существенно отличаться от таковой при других видах локомоции. Именно этой проблеме посвящена диссертационная работа Вещицкого А.А., объединяющая в себе совокупность физиологических и морфологических подходов и методов.

Научная новизна исследования, достоверность и обоснованность научных результатов. В представленной диссертации на большом объеме физиологических и морфологических данных **впервые** выявлены границы пояснично-крестцовых сегментов спинного мозга, эпидуральная стимуляция которых вызывала шагательные движения задних конечностей в направлении вперед и назад в зависимости от движения ленты тредбана. Полученные данные подкреплены результатами иммуногистохимического выявления продукта экспрессии раннего гена *c-fos*, позволяющего маркировать активные во время локомоции нейроны.

Таким образом, в различных пластинках Рекседа и областях серого вещества сегментов L1-S1 выявлено распределение нейронных популяций, активных при эпидуральной стимуляции спинного мозга. Также, в работе подробно описано распределение нейронов, иммунопозитивных к кальций-связывающим белкам (кальбиндину и парвальбумину), маркирующих разнородные популяции нервных клеток. С помощью разработанных алгоритмов выявления областей колокализации нейронов, иммунопозитивных к разным маркерам, были выявлены основные зоны серого вещества, содержащие кластеры интернейронов, задействованные в контроле направления при ходьбе.

Доказательная база проделанной работы представлена более чем солидно. Она обеспечена достаточным количеством экспериментального материала, с хорошей статистической обработкой. С точки зрения гистологической части работы следует подчеркнуть высокое качество проведенных иммуногистологических реакций, правильный выбор контроля и хорошее качество иллюстративного материала.

Теоретическая и практическая значимость, а также рекомендации по использованию данных исследования. Результаты исследования, полученные диссертантом, расширяют представления об организации спинальных локомоторных сетей, и в совокупности с основными принципами спинального локомоторного контроля могут быть перенесены в область современного нейропротезирования. Данные о распределении разнородных популяций нейронов серого вещества, их количественные и качественные характеристики, а также выявленные иммуногистохимические маркеры нейронов разного типа, позволяют уточнить схемы спинальных локомоторных рефлекторных дуг, определить роль их звеньев в регуляции этих форм движений.

Можно рекомендовать данные, полученные в работе Вещинского А.А., использовать при чтении лекций по физиологии человека и животных, читаемых для студентов медицинских и биологических Вузов, а также будут полезны специалистам – ветеринарам.

Общая характеристика работы. Диссертационная работа Вещицкого А.А. имеет традиционную структуру и состоит из введения, обзора литературы, материала и методов, результатов, обсуждения, выводов и списка литературы. Основной текст диссертации изложен на 214 страницах печатного текста, содержит 6 таблиц и иллюстрирована 52 рисунками. Список литературы написан по требуемой форме и содержит 532 источника.

Во введении автор определяет актуальность темы исследования, формулирует цели и задачи, научную новизну работы, выдвигает основные положения, выносимые на защиту, описывает теоретическую и практическую значимость, формы апробации работы, а также указывает свой личный вклад в исследование.

В главе «Обзор литературы» подробно и упорядоченно описаны необходимые сведения для понимания работы локомоторных сетей спинного мозга. Автор подробным образом описывает историю развития представлений о механизмах локомоторной деятельности, после чего даёт данные об анатомии спинного мозга, классификации его нейронов и цитоархитектонике серого вещества. После этого автор переходит к описанию современных представлений об организации локомоторной системы на уровне спинного мозга и представляет конкурирующие модели устройства специфических нейронных сетей, формирующих ключевое звено в реализации локомоции – центральный генератор паттернов. Автор завершает главу описанием кальций-связывающих белков, выступающих в ЦНС в качестве маркеров различных популяций интернейронов. Представленный обзор логично структурирован и даёт информацию, необходимую для понимания результатов исследования.

Небольшие замечания/пожелания по этой части работы:

- можно было бы сократить список литературы, убрав ряд работ, в которых рассматриваются вопросы, не относящиеся к теме работы (например работы по преганглионарным нейронам вегетативных центров спинного мозга).

- в конце обзора логично было бы представить небольшой абзац, который бы суммировал известные данные по проблеме и те нерешенные вопросы, которые вытекают из анализа литературы и из которых и формируются задачи работы

- непонятно, откуда в вегетативных центрах спинного мозга (боковых рогах) моторные нейроны? Что это за «симпатические или парасимпатические мотонейроны», расположенные в сером веществе спинного мозга? Это какие-то новые данные, неизвестные специалистам?

В главе: **«Материал и методы»** представлены группы экспериментальных животных, протоколы хирургических операций и эпидуральной стимуляции, описание эксперимента по выявлению активных нейронных сетей с помощью иммуногистохимического метода выявления продукта экспрессии раннего гена *c-fos*, методы регистрации электрической активности мышц и кинематики движений конечностей, протоколы перфузии, диссекции и иммуногистохимического выявления разных антигенов, методы цифровой обработки и анализа гистологического материала, а также алгоритмы статистического анализа. Используемые в диссертации методы полностью соответствуют поставленным целям и задачам.

Есть вопрос по статистической обработке гистологических препаратов. Почему на одних и тех же рисунках (например - рис.28) на гистограммах приводятся интервалы показателей измерений, а на соседней гистограмме – их нет? Хотя параметры измерялись одинаковые. Также и на ряде других рисунков. В подписях нет указания на количество животных.

В главе **«Результаты исследования»** представлено описание собственных результатов работы, которые иллюстрированы множеством наглядных рисунков и таблиц, облегчающих восприятие обширного материала, полученного автором. Результаты работы хорошо структурированы и поделены на части. Для нейрогистологов наиболее интересна вторая часть работы, где автор описывает распределение в сером веществе спинного мозга активных нейронных сетей при его эпидуральной стимуляции. Кроме классического

описания распределения иммунопозитивных нейронов по пластинам Рекседа, автор представляет собственный алгоритм деления серого вещества, позволяющий стабильно делить его на функциональные зоны. С помощью данного алгоритма автор четко выявляет основные зоны серого вещества, в которых наблюдаются достоверные различия в числе *c-Fos*-иммунопозитивных нейронов между ходьбой вперед и ходьбой назад. Подробным образом описывается распределение нейронов, иммунопозитивных к кальций-связывающим белкам – кальбиндину и парвальбумину, маркирующим разнородные популяции интернейронов.

В главе «Обсуждение» автор обобщает результаты и даёт оценку полученным данным на основе подробного анализа большого количества литературных данных. При этом автор на основе обсуждения строит общую схему результатов исследования, способствующую более лёгкому восприятию представленной информации.

Выводы, сделанные соискателем, полностью соответствуют задачам исследования, обоснованы и логично вытекают из представленных результатов.

Принципиальных замечаний к работе нет. Материалы опубликованы в известных журналах (в том числе, из списка Scopus и ВАК) и широко представлялись на Всероссийских и Международных конференциях.

В порядке дискуссии, хотелось бы задать автору еще ряд вопросов:

- почему для маркирования интернейронных популяций спинного мозга были выбраны именно кальбиндин и парвальбумин, а не другие кальций-связывающие белки?

- каким образом электрическая эпидуральная стимуляция активирует спинальные локомоторные сети?

Высказанные замечания и вопросы носят дискуссионный характер, не затрагивают суть работы и направлены на ее улучшение и развитие.

Заключение. Диссертационная работа Вещицкого Александра Александровича на тему: «Исследование морфофункциональной архитектуры сенсомоторных нейронных сетей спинного мозга кошки, обеспечивающих

ходьбу в разных направлениях», является законченным научно-квалифицированным трудом, который по: актуальности, объёму полученных данных, методическому уровню и практической значимости результатов работа полностью соответствует требованиям ВАК Министерства науки и ВО Российской Федерации, предъявляемых к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук (п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года №842 с изменениями, утвержденными постановлением Правительства РФ №335 от 21.04.2016). Её автор, **Вещицкий Александр Александрович** заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: **03.03.01 – физиология и 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.**

Доктор биологических наук, профессор, академик Российской и Европейской академии естествознания

Обухов Д.К.

Профессор кафедры цитологии и гистологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»
199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9 Телефон: +7 (812) 328-96-87, E-mail: d.obukhov@spbu.ru

Согласно копии Д.К. Обухов
удостоверяю

ЗАМЕСТИТЕЛЬ НАЧАЛЬНИКА
УПРАВЛЕНИЯ КАДРОВ
ГУОРП
ОС СУВОРОВА

