

ОТЗЫВ

Официального оппонента о диссертационной работе
Мусиенко Павла Евгеньевича

"Спинально-стволовые механизмы интегративного контроля позы и локомоции", представленной на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 03.03.01 – физиология

В диссертации П.Е. Мусиенко исследованы спинальные и стволовые механизмы интегративного пострурально-локомоторного контроля и методов их восстановления при нейромоторных расстройствах. Проблема управления позой и движением и, в частности, локомоторной активностью является одной из ключевых в современной физиологии. Известно, что в поддержании позы и локомоции участвуют многие отделы нервной системы, однако роль и значение каждого из них остаются до сих пор неясными. Поэтому представляет большой интерес выполненное в работе исследование роли отдельных центров ствола, нисходящих супраспинальных сигналов и спинальных систем в управлении позой и локомоцией, а также их взаимодействие. Кроме фундаментального значения, выяснение механизмов контроля позы и локомоции имеет большое прикладное значение для разработки эффективных методов восстановления локомоции при различных повреждениях нервной системы. Это определяет большую актуальность представленной диссертации. Впечатляет большой объем работы, разнообразие методов, логика постановки экспериментов, глубокий анализ полученных результатов и нацеленность на их использование в клинике. Особенно это касается разработки метода восстановления локомоции после перерезки спинного мозга с помощью комбинированного использования робототехнического устройства, электростимуляции спинного мозга и нейрохимического воздействия. Разработка этого метода является кульминацией диссертации и предпосылкой для широкого внедрения ее результатов в клинику. Как отмечено в работе, по оценкам, около 2.5 млн людей имеют хронические заболевания спинного мозга.

Высокий уровень работы обусловлен применением разнообразных экспериментальных моделей (три вида животных с различными уровнями повреждения), различных методов воздействия (электрического и нейрохимического), регистрацией множества параметров (электромиограмм, кинематики, опорных реакций, составивших в общем 129 различных характеристик двигательной активности), морфологическими и гистохимическими исследованиями и эффективным применением математической статистики (в частности, оригинального статистического подхода на основе метода главных компонент).

Диссертация изложена на 340 страницах и содержит введение, главу, посвященную обзору литературы, методическую главу, и 5 глав собственных экспериментальных исследований, общего обсуждения, выводов и списка цитированной литературы из 510 наименований. Каждая из глав содержит собственное краткое введение и обсуждение, что значительно облегчает чтение диссертации.

Во введении обоснована актуальность проблемы и сформулированы основные задачи исследования. В первой главе изложены современные представления о спинально-стволовых механизмах управления позой и локомоцией и методах реабилитации спинальных больных. Литературный обзор показывает, что, несмотря на выдающиеся достижения в понимании фундаментальных механизмов пострурального и локомоторного контроля, функциональная роль ствола и спинного мозга, а также аспекты их взаимодействия остаются во многом неясными и требуют дополнительного исследования. Особенно это касается разработки методов двигательной реабилитации, эффективность которых зависит от глубины и ясности фундаментальных представлений о механизмах пластичности нервной системы. Это обосновывает выбор основных целей и этапов диссертационного исследования.

В гл. 2 описана общая методология проведенного исследования, использованные экспериментальные модели, методы стимуляции и регистрации. В каждой эксперимен-

тальной главе дополнительно даются детали методологии, специфические для экспериментов, описанных в соответствующей главе. Эксперименты проводились на кошках, кроликах и крысах при различных уровнях децеребрации и повреждении спинного мозга. Электрической стимуляции подвергались двигательная кора, мезэнцефалическая локомоторная область, верхняя область покрывки и различные участки спинного мозга. Регулярно регистрировались опорные силы, кинематика движения и электромиографическая активность различных мышц задних конечностей и спины. В некоторых экспериментах регистрировалась еще и нейронная активность головного мозга. Общее число регистрируемых параметров достигало 129. Для анализа столь большого массива данных использовалась оригинальная многоступенчатая процедура, основанная на методе главных компонент. Следует заметить, что эта процедура имеет общее значение и может быть применена для большого числа разнообразных исследований. На высоком современном уровне проводились также морфологические и гистохимические исследования.

Гл. 3 посвящена исследованию роли ствола и спинного мозга в постуральном и локомоторном контроле. Описаны результаты двух видов экспериментов. Первая часть главы посвящена экспериментам по стимуляции ствола и спинного мозга у децеребранных кошек с целью выяснения роли этих структур в функциональной организации системы контроля направления шага. Основной результат этой части состоит в том, что электрическая тоническая стимуляция мезэнцефалической локомоторной области (МЛО) запускает только ходьбу вперед, а стимуляция спинного мозга (СМ) - ходьбу в любом направлении в зависимости от направления ленты тредбана. При вывешивании животного, когда его ноги не касаются тредбана, стимуляция МЛО по-прежнему вызывает явную локомоторную активность, соответствующую движению вперед, а стимуляция СМ - только слабые ритмические движения ног без горизонтальной составляющей. Хотелось бы получить более точную интерпретацию полученного результата. Это отражает более широкие возможности стимуляции СМ, способной при определенных условиях вызвать ходьбу в любом направлении, или эта стимуляция только обеспечивает отдельные шаги, связанные с пассивным переносом ноги лентой тредбана? Из обсуждения результатов скорее следует второй вывод, но он четко не сформулирован. Вторая часть главы посвящена экспериментам по исследованию постурального контроля у децеребранных кроликов. Показано, что эта функция сохраняется при премамиллярной и исчезает при постмамиллярной децеребрации, однако может быть восстановлена стимуляцией МЛО. При рассечении спинного мозга на уровне T12 исчезают и рефлексы на растяжение и сжатие задних конечностей. Однако эти рефлексы частично восстанавливаются в период после стимуляции поясничного отдела спинного мозга, особенно в сочетании с применением агониста 5-HT рецепторов, кветазина. Делается вывод, что это в основном связано с активацией рецепторов растяжения мышечных веретен. К сожалению, не обсуждается механизм сохранения эффекта электростимуляции, хотя это могло бы дать подход к проблеме пластичности нейронных сетей спинного мозга, решение которой так нужно при разработке методов двигательной реабилитации.

Гл. 4 посвящена исследованию нейрорецепторных механизмов регуляции локомоции и позы у спинальных животных. Эта глава мне представляется наиболее интересной и плане постановки экспериментов, и в плане используемых методов анализа. Очень увлекательно следить за логикой автора при последовательном применении нейрохимических препаратов, шаг за шагом восстанавливающих утраченные при перерезке спинного мозга двигательные функции у крыс. Выяснение специфической роли различных рецепторов для восстановления различных аспектов двигательного управления является фундаментальным результатом, позволяющим проводить их направленное применение в клинике в зависимости от выраженности указанных аспектов. Показано, что активация четырех типов рецепторов (трех типов серотониновых и одного типа дофаминовых) и деактивация одного типа норадреналиновых рецепторов совместно с электрической стимуляцией спинного мозга почти полностью восстанавливали паттерн ходьбы у спинальных крыс.

Некоторым недостатком является недостаточная полнота описания оригинального многошагового метода анализа, основанного на методе главных компонент. Его бы легче было понять, если бы он был описан математически, а не качественно, как это сделано в диссертации.

Пятая глава посвящена проблеме мультисенсорной реабилитации постуральной и локомоторной функций у спинальных и постинсультных крыс. Подход к решению этой проблемы основан на результатах восстановления двигательных функций, описанных в предыдущей главе, дополненных применением специально разработанного роботизированного устройства, обеспечивающего движение крысы в пространстве с четырьмя степенями свободы: три пространственные координаты и вращение вокруг вертикальной оси. Крысы в течение 7 недель по 6 дней в неделю тренировались на выполнение 7 локомоторных задач, включая квадрипедальное движение по лестнице и изогнутому треку. Движение крыс обеспечивалось роботизированным устройством. Показано, что тренировки с применением робота значительно улучшали паттерны ходьбы, приближая их к норме, по сравнению с тренировками на тредбане. Такое улучшение обеспечивалось более разнообразным сенсорным опытом при выполнении различных локомоторных задач. В другой серии экспериментов было показано, что тренировка с помощью робота обеспечивает восстановление двигательных функций за счет прорастания новых нейронных связей в обход повреждения спинного мозга. Тренировка на тредбане не давала такого прорастания. Это подчеркивает важность для реабилитации активных целенаправленных движений по сравнению с пассивными. Интересно, что тренировка с помощью робота обеспечивала пластические изменения всего мозга крыс, а не ограничивалась только спутыванием спинального повреждения. Трудно переоценить значение этих результатов для создания новых эффективных методов реабилитации спинальных больных.

В гл. 6 исследовались механизмы постурального контроля при локомоции, т.е. фактически механизмы поддержания динамической устойчивости ходьбы. В этих экспериментах кошки подвергались различным возбуждениям в различные фазы ходьбы. Результаты этой главы показывают, что, используя только соматосенсорный вход, в присутствии только тонической стимуляции, постмамиллярно децеребрированные кошки не только могут поддерживать устойчивость спокойной ходьбы, но и адаптироваться к различным как регулярным, так и случайным возмущениям.

В седьмой главе дается общее обсуждение полученных результатов.

Кроме замечаний, сделанных при обсуждении отдельных глав, по диссертационной работе имеются еще следующие замечания:

1. Представляется, что работа бы выиграла при добавлении еще и биомеханического анализа. Для его проведения регистрируется достаточно кинематических и динамических характеристик движения. Например, такой анализ позволил бы прояснить наличие временных задержек между латеральными отклонениями тела и опорными силами, обнаруженными в Гл. 6, лучше понять функциональное значение активности отдельных мышц, рассчитав силовые моменты в каждом суставе, или попытаться разделить вклады в движение от управлений по прямой и обратной связи.
2. Хотелось бы уточнить предположение, сделанное при общем обсуждении о том, что «общие спинальные механизмы используются в генерации одиночных шагов при постуральных коррекциях и повторяющихся шагах во время локомоции» (см. замечание к Гл. 3).
3. Как в любой большой работе, в диссертации имеются опечатки, которые в данной работе, по-видимому, связаны с переводом текста статей с английского на русский. Хотя в целом диссертация написана очень ясно и логично, с очень полезными краткими введениями и обсуждениями по каждому разделу, в ней имеются неясные выражения. Например «снижение центра давления стопы» на стр. 152 диссертации.

4. Представляется также, что Гл 6 было бы более уместно вставить после Гл. 3. Именно такой порядок обсуждения результатов выбран при общем обсуждении и в автореферате. Тогда обсуждение идет по возрастающей, достигая кульминации в Гл. 4 и 5, в которых на мой взгляд представлены наиболее значимые результаты.

Отмеченные замечания не являются принципиальными и не касаются собственно сути работы. По постановке экспериментов, уровню их обсуждения, достоверности результатов и их интерпретации у меня замечаний нет. Специально можно отметить эффективное применение самых современных методик исследования. Сформулированные в работе научные положения и выводы хорошо обоснованы, они подтверждаются результатами, изложенными в диссертационной работе и в публикациях автора по теме диссертации.

Содержание диссертации достаточно полно раскрывает цель работы, методику экспериментов и анализ полученных результатов. Основные результаты диссертации опубликованы в рецензируемых научных изданиях, в том числе в международных журналах с высоким импакт-фактором, и докладывались на международных и всероссийских конференциях. Автореферат и опубликованные работы достаточно полно отражают содержание диссертации. Значимость и новизна результатов подтверждена несколькими патентами.

Диссертация является законченной научной работой. Экспериментальные результаты достоверны, а их интерпретация дана на высоком научном уровне. Полученные результаты по значимости для фундаментальной науки и возможности клинического применения соответствуют самому высокому уровню современной мировой физиологии. Таким образом, данная работа соответствует всем требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановления Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842, предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор – Мусиенко Павел Евгеньевич заслуживает присвоения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 03.03.01 – физиология

Официальный оппонент
д. б. н., к. ф-м. н., профессор



А.А. Фролов

Подпись Фролова А.А.
УДОСТОВЕРЯЮ
Зад. канд. ИВНА и НО