

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук, профессора Рожковой Галины Ивановны на диссертацию Михалкина Александра Александровича «Развитие структурно-функциональной организации Y зрительного проводящего канала в онтогенезе», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.22 – клеточная биология и 1.5.5 – физиология человека и животных.

Актуальность исследования

В представленной А.А. Михалкиным диссертационной работе обобщены результаты нескольких лет изучения автором структурно-функциональной организации одного из основных каналов переработки зрительной информации у позвоночных животных с высокоразвитым зрением – так называемого Y-канала, который связывают с восприятием и анализом движения. В сложной гетерархической структуре зрительной системы этот канал выделяется относительно крупными размерами нейронов и высокой скоростью проведения сигналов по аксонам. Большой интерес к этому каналу со стороны различных специалистов по зрению и его нарушениям объясняется не только его важной ролью в зрительном восприятии, но и тем, что его функционирование и состояние очень чувствительно к действию различных вредных факторов. Это свидетельствует о потенциальной диагностической ценности исследования Y-канала, и уже имеются данные о его аномалиях при целом ряде заболеваний.

Морфологическим и нейрофизиологическим исследованиям Y-канала посвящена обширная литература, но большинство используемых методов не обеспечивает возможности получать достаточно точную и детальную информацию, необходимую для создания рабочих моделей нейронных механизмов. В частности, быстро распространяющиеся в последние десятилетия мощные неинвазивные методы типа структурного и функционального магнитно-резонансного имиджинга (MRI и fMRI), в

принципе позволяющие визуализировать и анализировать процессы во всех зрительных областях мозга, имеют в этом отношении серьёзные ограничения. В плане детального изучения нейронных структур на сегодняшний день вне конкуренции пока остаются гистологические и гистохимические методики, особенно с использованием маркёров. Это прекрасно отражено в работе диссертанта, которая продемонстрировала актуальность и продуктивность таких методик.

Конечно, успех представленной работы зависел не только от методики, но и от общей эрудиции исследователя, его способности рационально поставить вопросы, целесообразно выбрать объект и модификации процедур, обеспечить необходимый объём выборок, качественно обработать и проанализировать весь полученный материал. Всё это было успешно сделано диссертантом благодаря большой предварительной работе по конструктивному анализу имеющейся богатой нейроанатомической и нейрофизиологической литературы и вдумчивому практическому освоению выбранных методов. Результатом хорошо продуманной и тщательно выполненной работы диссертанта стало получение новых важных данных, представляющих интерес как для широкого круга специалистов по зрению, проводящих фундаментальные исследования в области клеточной биологии, нейрофизиологии, моделирования зрительного восприятия, так и для офтальмологов, разрабатывающих новые методы ранней и дифференциальной диагностики зрительных расстройств.

Структура, объём и содержание диссертации

Диссертация имеет традиционный формат: она состоит из введения, обзора литературы (глава 1), описания материалов и методов (глава 2), изложения результатов собственных исследований (глава 3), обсуждения (глава 4), выводов и списка литературы. Общий объём рукописи с 45-ю рисунками и 15-ю таблицами составляет 220 страниц. Это не слишком много, так как почти 50 страниц занимает список литературы, содержащий 453

источника. Для такого многопланового и сложного исследования, каким является рассматриваемая диссертационная работа, трудно обойтись меньшим числом проанализированных публикаций.

Во **введении** обоснована актуальность выбранной темы, сформулированы цель, задачи, научная новизна и практическая значимость работы, приведены сведения о её апробации и публикациях по полученным результатам, о положениях, выносимых на защиту.

Глава 1, содержащая обзор литературы по ключевым объектам и вопросам исследования, написана автором чётко, лаконично и информативно. Текст читается легко и свидетельствует о внимательном и глубоком анализе автором материала публикаций, которые были необходимы ему для получения общего представления о степени сложности системы, выбранной для исследования, и для формирования своего собственного взгляда на проблематику и экспериментальные методы. Эта глава содержит три раздела, логично подводящие к описанию деталей и результатов собственного исследования диссертантом онтогенетического развития структурно-функциональной организации Y-канала – одного из компонентов нейронного зрительного пути у высших позвоночных, начинающегося в сетчатке и идущего через наружное коленчатое тело (НКТ) в зрительную кору мозга. .

В первом разделе главы 1 дана разносторонняя характеристика основных параллельных каналов обработки зрительной информации у высших позвоночных животных – хищников и приматов, с естественным акцентом на Y-канал. Второй раздел содержит изложение накопленных к настоящему времени сведений по НКТ кошки – его макроструктуре, клеточном составе, ретиногеникулятных, геникуло-кортикальных и кортико-геникулятных проекциях. Основное внимание уделено дорсальной части НКТ (НКТд) и медиальному интерламинарному ядру (МИЯ) через которые идут главные проводящие пути в зрительные зоны коры мозга. В третьем разделе приведено общее описание пренатального и постнатального развития

НКТ кошки с характеристикой стадий критического периода развития зрительной системы.

В главе 2, посвященной материалам и методам исследования, разносторонне обоснованы и подробно прокомментированы все существенные моменты и детали проведенной работы – от выбора возрастных групп подопытных животных (31 животное, 10 групп), позволяющих получить достаточно полное представление о развитии НКТ, до протоколов специфических процедур обработки препаратов. В частности, поясняется, в силу каких причин и особенностей стереометрии все слои МИЯ оценивались в совокупности и только на фронтальных срезах, тогда как в НКТд, – зоне наибольшего для диссертанта интереса – был проведен более детальный и полный анализ.

Основой экспериментальной работы А.А. Михалкина был иммуногистохимический метод с использованием структурно-функциональных маркёров – антител SMI-32. Этот метод позволил диссертанту успешно исследовать развитие Y канала, в том числе и на сроках, недоступных для его электрофизиологической идентификации, поскольку накопление антигена антител SMI-32 коррелирует с функциональной зрелостью нейронов.

Клеточные популяции НКТд анализировались диссертантом с использованием разработанного им совместно с научным руководителем метода деления этого ядра на функциональные области (Михалкин, Меркульева, 2016). На фронтальных и сагиттальных срезах выделяли три иммунопозитивных к SMI-32 слоя (А, А1 и С_м).

В отношении адекватной интерпретации получаемых морфологических данных следует отметить хорошую ориентацию диссертанта в имеющейся литературе о возможной функциональной роли исследуемых структур в контексте работы всей зрительной системы и понимание специфики статистической обработки, целесообразной для применения в конкретных случаях.

Все значимые результаты проведенного исследования, подробно представленные и разносторонне обсужденные автором в главах **Результаты** и **Обсуждение**, невозможно описать даже кратко ввиду их большой специфичности и конкретности. Не претендуя на полноту и адекватное ранжирование по важности, суммируем их как бы в форме реферата следующим образом.

В итоге комплексного, систематического и трудоёмкого иммуноцитохимического исследования автором диссертации получена детальная информация об изменениях с возрастом общего числа SMI-32(+) нейронов в НКТд и в первичной зрительной коре, о плотности таких нейронов в различных слоях и их морфометрических параметрах (размерах, ориентации сомы и др.) в сравнении с информацией о росте НКТд и изменениях общей нейрональной структуры на разных этапах организации кортико-таламических проекций, особенно во время прекритического и критического периодов развития зрительной системы. Сделан вывод о гетерогенности исследованных популяций SMI-32(+) нейронов и о гетерохронности развития разных субпопуляций. В зрительной коре показано опережающее формирование поля 18 в сравнении с полем 17, что коррелирует с имеющимися данными об опережающем развитии системы восприятия движения в сравнении с системой точного распознаванием формы в зрительной системе приматов.

Научная новизна

Автором впервые проведено подробное картирование популяции нейронов Y проводящего канала в зрительном таламусе и первичной зрительной коре кошки на очень высоком уровне детальности с обоснованным подразделением на слои и идентификацией нейронов разных типов. Получены новые факты о развитии структурно-функциональной организации дорзального ядра наружного коленчатого тела (НКТд) у кошки в онтогенезе, совокупность которых указывает на

гетерохронное развитие разных субпопуляций Y нейронов зрительного таламуса. В частности, показано более раннее созревание функциональной субпопуляции Y нейронов OFF типа и выявлен неравномерный рост НКТд относительно представительства вертикального и горизонтального меридианов поля зрения. Эти открытия представляют несомненный интерес для специалистов по исследованию формирования ретинотопических мозговых проекций и развитию бинокулярного зрения.

Впервые обнаружена временная «избыточность» числа Y нейронов: транзиторное приращение плотности Y клеток в перигеникулярном ядре (ПГЯ), НКТд и VI слое первичной зрительной коры. Естественно предположить, что эта «избыточность» связана с деятельностью механизмов формирования таламо-корковых отношений во время двух этапов развития зрительной системы: прекритического и критического.

При сравнении формирования двух областей первичной зрительной коры (полей 17 и 18) показано опережающее развитие поля 18, вовлечённого в обработку зрительной информации о движении. Это согласуется с данными об опережающем развитии корковой системы анализа распознавания движения у приматов, включая человека.

Теоретическое и практическое значение

Представленные диссертантом экспериментальные данные и результаты их анализа вносят существенный вклад в понимание процессов нормального развития подсистемы анализа движения в зрительной системе животных с высокоорганизованным зрением. Обнаружение гетерохронности созревания популяций нейронов разных типов и описание общих особенностей развития системы анализа движения может быть продуктивно учтено в дальнейших исследованиях специалистами разного профиля.

Многие из конкретных данных и результатов, полученных А.А.Михалкиным, заслуживают использования в учебных пособиях, методических руководствах и курсах лекций. В ходе выполнения работы была создана программа полуавтоматической обработки изображений гистологических препаратов, апробация которой позволяет надеяться на возможность её применения в других нейробиологических исследованиях.

Достоверность и обоснованность положений и выводов диссертации А.А.Михалкина не вызывает сомнений. Работа выполнялась в лаборатории, имеющей богатый опыт такого рода исследований, и велась планомерно, без спешки, с применением всех необходимых средств контроля и анализа и с использованием достаточного числа экспериментальных животных. Положения и выводы, выносимые на защиту, полностью обоснованы и соответствуют полученным данным. Детальное ознакомление с работой позволяет говорить о высокой степени достоверности представленных в диссертации результатов исследования.

Вопросы и замечания

При чтении диссертации возникают не столько замечания, сколько пожелания (правда, едва ли осуществимые) в отношении развития такого рода исследований и расширения круга экспериментальных животных. Кстати, не лишним было бы обсуждение вопроса о породах кошек и индивидуальной вариабельности их мозговых структур, а также о других экспериментальных объектах.

В очень небольшом количестве в тексте встречаются терминологические, стилистические и грамматические погрешности. Приведу лишь один «терминологический» пример. Диссертант пишет: «каждое таламическое ядро развивается гетерохронно». Это не вполне корректно, так как гетерохронность (различие в хронологии событий или изменений) подразумевает сравнение двух или более временных

последовательностей. Если в одном ядре по-разному развиваются разные типы нейронов или отделов, то это - гетерохронное созревание разных нейронов или разных отделов внутри ядра. Большинство огрехов – это обычные опечатки (с. 17, строка 4 снизу: «по частоте *разрядки* нейрона» , а надо – разрядов; с. 33, строка 2 после подписи к рисунку: «геникуло-*и*кортикальные» - надо убрать лишнюю букву; и т.п.), которые нет смысла перечислять.

Публикации по теме диссертации

По материалам диссертации опубликовано 9 научных статей в рецензируемых журналах и 2 главы в монографиях. Работа была достаточно полно представлена на конференциях различного уровня (опубликованы тезисы докладов в сборниках трудов 14 конференций).

Содержание автореферата соответствует содержанию диссертации и адекватно отражает её положения и выводы.

Заключение

Диссертационная работа Михалкина Александра Александровича на тему «Развитие структурно-функциональной организации Y зрительного проводящего канала в онтогенезе» является итогом самостоятельно выполненных автором исследований и представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой содержится решение актуальной научной проблемы в области клеточной биологии и нейрофизиологии.

По актуальности и объему проведённых исследований, их методическому уровню, научной новизне и практической значимости полученных результатов работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842, с изменениями от 11.09.2021, №1539, предъявляемым ВАК к кандидатским диссертациям, а ее автор

достоин присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.22 – клеточная биология и 1.5.5 – физиология человека и животных.

Рожкова Галина Ивановна,
доктор биологических наук, профессор,
главный научный сотрудник
Лаборатории № 11 «Зрительные системы»
Института проблем передачи информации
им. А.А.Харкевича Российской академии наук

Г.И. Рожкова

Адрес работы:

ФГБУН «Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича
Российской академии наук», лаборатория № 11 «Зрительные системы»,
Б. Каретный пер., д. 19, стр. 1, 127051 г. Москва

Тел. +7 (495) 694-14-77

E-mail: gir@iitp.ru

«30» ноября 2023 г.

