

## **ОТЗЫВ**

Официального оппонента на диссертацию

Смирнова Кирилла Сергеевича

на тему: «Сенсорные факторы развития нервной системы у крыс с генетической  
предрасположенностью к абсансным приступам»

по специальности 1.5.5 – Физиология человека и животных (биологические науки)

на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

### **Актуальность темы диссертационного исследования.**

Диссертационное исследование Смирнова Кирилла Сергеевича посвящено одной из актуальных проблем нейрофизиологии и биомедицины – изучению механизмов неврологических заболеваний. Эпилепсия является одним из наиболее распространенных нарушений работы ЦНС, и может проявляться неконтролируемыми нарушениями двигательных, чувствительных либо вегетативных функций организма, многообразие форм эпилептических состояний осложняет диагностику и лечение этого заболевания.

Абсансная форма эпилепсии (абсансная эпилепсия, АЭ) обладает рядом особенностей, наряду с генерализованной спайк-волновой паталогической активностью, регистрируемой по ЭЭГ, для АЭ характерен тип кратковременных приступов без выраженных моторных расстройств, но с приостановкой текущей деятельности вплоть до выключения сознания. Этим обуславливается особая опасность данной формы эпилепсии, связанная с внезапной потерей контроля поведения пациента.

АЭ выявляется преимущественно в детском и подростковом возрасте, однако в последнее время все больше свидетельств о распространении данной формы эпилептических припадков среди взрослых, выявлению которых мешают трудности диагностирования. Особое внимание в клинике уделяется психоневрологическим нарушениям поведения больных с диагнозом эпилепсия, оказывающим негативное влияние на качество жизни пациентов. Такие наблюдения также могут служить маркерами для диагностики различных форм эпилепсии, в частности, АЭ.

В связи с этим, диссертационная работа Смирнова Кирилла Сергеевича, посвященная исследованию механизмов АЭ на животных моделях, а также изменениям в поведении животных, связанным с развитием данной формы эпилепсии, безусловно, остро актуальна.

### **Научная новизна представленной работы**

Крысы линии WAG/Rij – является признанной валидной моделью АЭ и широко используется как в фундаментальных, так и в преκληических исследованиях. Использование

данной модели позволяет приблизиться к пониманию механизмов, лежащих в основе развития судорожных состояний и отклонений в поведении у пациентов с диагнозом абсансная эпилепсия. В ходе диссертационного исследования, используя модель АЭ – крыс линии WAG/Rij – автор получил ряд принципиально новых результатов.

Большое количество животных в выборке и длительные периоды регистрации ЭЭГ позволили автору впервые выделить из общей популяции животных линии WAG/Rij «симптомного» и «бессимптомного» фенотипов. Крысы «бессимптомного» фенотипа использовались в качестве адекватного контроля по отношению к животным с выраженными проявлениями АЭ.

Впервые была проанализирована связь развития и степени тяжести проявлений АЭ (по выраженности судорожных припадков, регистрируемых по ЭЭГ) с поведенческими параметрами, такими как уровень тревожности, импульсивность и способность к обучению, на валидной животной модели АЭ: у крыс «симптомного» фенотипа поведение характеризовалось пониженной тревожностью, повышенной импульсивностью и снижением способности к обучению.

Исследуя роль сенсорного притока от вибрисс на ранних этапах постнатального онтогенеза, автор впервые проанализировал влияние его ограничения (состригание вибрисс) на различных этапах созревания соматосенсорной тактильной системы у крыс. Было обнаружено, что такая сенсорная депривация ведет к более раннему развитию пик-волновой активности (ПВА) «симптомного» фенотипа крыс линии WAG/Rij в возрасте 5 месяцев, вне зависимости от периода воздействия.

Впервые проведенный автором анализ влияния ограничения сенсорного притока в разные критические периоды созревания вибротактильной системы на сроки формирования различных форм поведения выявил, что при ограничении сенсорного притока от вибрисс в период появления вибротактильных движений, с 9 по 16 дни жизни, происходит значительная реорганизация поведения, связанная, по-видимому, с компенсацией сенсорной недостаточности.

### **Теоретическая и практическая значимость результатов, полученных соискателем**

Значение работ, посвященных выявлению механизмов, лежащих в основе развития судорожных состояний, трудно переоценить. В представленной диссертационной работе автор, используя модель АЭ – крыс линии WAG/Rij – получил новые результаты, касающиеся развития приступов пик-волновой активности у этих животных. Тот факт, что для развития эпилептогенеза наиболее важным является длительность ограничения сенсорного притока, а не сроки этого воздействия, свидетельствует о том, что критические периоды созревания вибриссной системы грызунов не играют принципиальной роли в развитии эпилептической активности у крыс WAG/Rij.



Выделение в популяции крыс линии WAG/Rij, животных с «бессимптомным» фенотипом, позволяет использовать их в качестве контроля по отношению к крысам с выраженными проявлениями пик-волновой активности в ЭЭГ. Сравнение эпилептических фенотипов позволит продвинуться в исследовании генетических особенностей и молекулярных путей, ведущих к формированию АЭ, а также облегчит поиск возможных мишеней для разработки новых лекарственных препаратов.

Практическая значимость работы состоит в получении ряда новых сведений о формировании опорных точек развития у крыс с АЭ. Данные, полученные в диссертационном исследовании, касающиеся развития моторных функций у грызунов в раннем онтогенезе, при сопоставлении с данными исследований на людях могут быть использованы в трансляционной перспективе.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Представленные в работе результаты исследований полностью обоснованы, получены с применением надежных экспериментальных методов и подходов. Автор представил в своей диссертационной работе большой объем экспериментального материала. Достоверность полученных результатов подтверждена надежными статистическими критериями и не вызывает сомнений. Основные положения, выносимые на защиту, отражают новизну, актуальность и практическую значимость работы. Обоснованность выводов подтверждается глубоким обсуждением материала и сопоставлением собственных экспериментальных данных с данными мировой литературы по теме диссертации.

### **Структура и содержание диссертационной работы**

Диссертационная работа Смирнова К.С. представляет собой завершенной научное исследование, построенное по традиционному плану. Текст диссертационного исследования изложен на 126 страницах, содержит 5 таблиц и 22 рисунка.

Глава 1 содержит литературный обзор, в котором приведен подробно проработанный, глубокий анализ научной литературы, посвященной исследованиям на модели АЭ – крысах линии WAG/Rij. Особое внимание уделено работам о развитии соматосенсорной вибриссной системы в постнатальном онтогенезе и роли сенсорного притока от вибрисс на физиологические характеристики взрослых животных, поскольку зона инициации эпилептиформной активности у этих животных находится в первичной проекционной зоне вибрисс.

Глава 2 содержит подробное описание групп крыс, условий их содержания, а также методов и подходов, использованных автором в исследовании. Были использованы современные методики оценки поведения, включая такие сложные и интересные методические разработки как методика «ИнтеллиКейдж» для изучения когнитивных способностей грызунов. В работе методы исследования поведения сочетаются с регистрацией электрофизиологических параметров ЭЭГ животных. При анализе пик-волновой активности у крыс «симптомного» фенотипа использовали автоматический алгоритм обнаружения эпизодов эпилептической активности на основе непрерывного вейвлет-преобразования. Следует особо отметить высокое качество записей ЭЭГ и стабильность и длительность отведения электрической активности мозга крыс в свободном поведении – регистрация ЭЭГ проводилась у животных на протяжении нескольких месяцев. Хочется особо отметить сложность работы с развивающимися животными. Автор сумел проследить зависимость регистрируемых параметров от процедур, проведенных у тех же крыс в период первых дней жизни, планируя эксперимент на несколько месяцев вперед. Безусловно, это является одной из сильных сторон представленной работы.

В главе 3 представлены результаты исследования. Подробно и аргументировано описаны изменения характеристик пик-волновой активности взрослых крыс, обусловленных ограничением сенсорного притока в раннем постнатальном онтогенезе. Регистрация и анализ электрофизиологических характеристик ЭЭГ животных позволили выделить в популяции крыс линии WAG/Rij животных двух различных фенотипов, «симптомного» и «бессимптомного». Сравнительное изучение поведения этих животных открывает новые перспективы для исследования механизмов АЭ, в том числе роли генетических факторов в развитии судорожной активности. Впервые было показано, что состригание вибрисс в возрасте 1-8 дней ведет к задержке открытия глаз и манипуляторной активности передних конечностей, а состригание в возрасте 9-16 дней приводит к сближению сроков открытия глаз и начала локомоторных реакций.

Обсуждение результатов в главе 4 проведено автором в сопоставлении своих данных с литературными. Автор диссертационного исследования, касаясь интерпретации полученных данных, обсуждает различные возможности объяснения наблюдаемых феноменов.

Список литературы включает 299 источников, представляя весь спектр научной литературы по данному вопросу.

Выводы сформулированы ясно и логично, полностью обоснованы и четко отражают суть полученных в исследовании результатов.

Результаты работы опубликованы в 6 печатных работах, включенных в перечень ВАК, в трех из них Смирнов К.С. является первым автором.

В качестве **замечания** отмечу некоторое количество опечаток и ошибок редактирования в тексте диссертации, например, несогласованные предложения. В целом диссертационная работа



оформлена аккуратно, богато иллюстрирована и является полностью завершенным научным исследованием.

### **Вопросы диссертанту**

1. Диссертационное исследование было проведено исключительно на самцах крыс, в связи с этим возникает следующий вопрос. Существуют ли данные, касающиеся характеристик пик-волновой активности самок линии WAG/Rij? Были ли отмечены различия, связанные с полом? Равное ли количество самцов и самок среди животных с «симптомным» и «бессимптомным» фенотипами?
2. Исследования, посвященные формированию опорных точек развития у крыс проводились в течение 12-19 дней жизни крысят, а параллельно, с 9 по 16 дни развития, у них проводилась процедура состригания вибрисс (либо ее имитация). В связи с этим возникает вопрос, не связаны ли наблюдаемые отличия в поведении не только с функциональным недоразвитием вибротактильной системы вследствие депривации, но и с механическим отсутствием максиллярных вибрисс, поскольку они еще не успевали отрасти на этих этапах проведения тестирования (с 12 по 16 дни жизни)? При этом в группе крыс, у которых состригали вибриссы в период 1-8 дней жизни, вибриссы, по-видимому, успевали к этому времени отрасти.

Необходимо отметить, что поставленные вопросы имеют дискуссионный характер и не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы Смирнова К.С.

### **Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней**

Таким образом, диссертация Смирнова Кирилла Сергеевича на соискание ученой степени кандидата наук является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи выявления предпосылок развития судорожных состояний на модели крыс с абсансной эпилепсией, имеющей существенное значение для нейробиологии и биомедицины.

По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов диссертационная работа Смирнова Кирилла Сергеевича является самостоятельным полностью законченным научным исследованием и полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842 (в ред. Постановления

Правительства РФ от 21.04.2016 г. №335), предъявляемых к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата биологических наук, и может быть представлена к защите по специальности 1.5.5 – Физиология человека и животных (биологические науки).

Официальный оппонент  
старший научный сотрудник  
кафедры Общей физиологии СПбГУ,  
доктор биологических наук



Вольнова А.Б.

(подпись)

Почтовый адрес:

Россия, 199034, Санкт-Петербург,

Университетская наб., д. 7–9,

Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего образования

«Санкт-Петербургский государственный университет»

Телефон: 8(812) 328-20-20

Адрес электронной почты: [srbu@srbu.ru](mailto:srbu@srbu.ru)

ЛИЧНУЮ ПОДПИСЬ

*Вольнова А.Б.*  
ЗАВЕРЯЮ

