

**ОТЗЫВ**  
**на автореферат**  
**диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук**  
**Лизуновой Натальи Владимировны**

**«ОПТИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ИЗУЧЕНИЮ ИНСУЛЬТА:  
КОРТИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ И ГЕМОДИНАМИЧЕСКИЕ  
ИЗМЕНЕНИЯ В МОДЕЛИ ФОТОТРОМБОЗА У МЫШЕЙ»**

**Актуальность работы.** Работа Натальи Владимировны Лизуновой находится на переднем рубеже современных нейробиологических исследований – как по используемым в ней передовым методам, так и по актуальности решаемых в ней задач. В отношении методов необходимо сказать, что применение диссертанткой широкопольной оптической *in vivo* нейровизуализации в сочетании с регистрацией кальциевых сигналов нейронов мозга посредством генетических сенсоров - это не только единственное, насколько мне известно, использование данной технологии у нас в стране, но и одна из наиболее передовых методик широкомасштабной визуализации активности клеточных популяций мозга экспериментальных животных, получающая в мире все большее распространение. С ее помощью, в частности, исследуют труднодоступные другим методам закономерности системной активности коры головного мозга бодрствующих животных в различных когнитивных задачах, а также отработывают новые поколения генетически кодируемых сенсоров, выявляющих различные аспекты функционирования нервных клеток.

В диссертационной работе Н.В. Лизуновой этот передовой метод был удачно соединен с широкопольной регистрацией гемодинамического сигнала коры головного мозга экспериментальных животных, что позволило производить оценку процессов сопряжения нейрональной и сосудистой активности коры мозга. Такое сочетание открыло возможность обратиться в диссертации к исследованию с помощью новых методов крайне актуального вопроса о нарушении при инсульте нормальной работы нейро-глио-сосудистого комплекса, обеспечивающего метаболические потребности нервной ткани по нейроваскулярному сопряжению. В данной диссертационной работе автором было проведено моделирование ишемического инсульта у мышей методом фотоиндуцированного тромбоза и далее с помощью широкопольной оптической нейровизуализации оценено возникающие при этом изменения

морфофункционального состояния коры, определены размеры ишемического очага и оценена тяжесть поражения по показателям нейроваскулярного сопряжения, функциональной связанности и локализации ответа на сенсорную стимуляцию.

По ходу данного исследования Н.В. Лизунова также успешно усовершенствовала и разработала новые методические подходы, в частности операции по формированию краниального окна, протестировала различные протоколы регистрации активности мозга, создала новую методику сенсорной стимуляции бодрствующего животного. Следует отдельно отметить, что Н.В. Лизуновой на языке программирования Python был разработан собственный алгоритм анализа данных, получаемых методом широкопольной оптической нейровизуализации, позволяющий оптимизировать анализ активности коры головного мозга. Он включает выравнивание изображений на основе опорных анатомических точек, удаление шумов, перевод интенсивности оптического сигнала в концентрации разных форм гемоглобина, а также удаление артефактов гемодинамики в флуоресцентном сигнале. Более того, перечисленные выше функции были объединены диссертанткой в программе с графическим интерфейсом, к которому были подключены и дополнительные модули - в частности, очень ценный модуль по аффинной трансформации анатомического атласа для выделения анатомических зон коры и автоматическому выделению области ответа в коре, вызванного сенсорной стимуляцией, а также модуль для корреляционного анализа функциональной связанности зон мозга при спонтанной активности. Все это следует считать несомненным достижением диссертационной работы и большой личной заслугой автора, проявившего столь высокую профессиональную компетенцию и квалификацию.

В совокупности эти передовые инструментальные приемы и новые методические разработки позволили Н.В. Лизуновой выявить ряд очень ценных, на мой взгляд, фактов. К ним, прежде всего, относится то, что в острый период инсульта, протекающий на протяжении первых суток после фотоиндуцированной ишемии, происходит значительное снижение нейроваскулярного сопряжения, в то время как статистически значимых различий в нейроваскулярном сопряжении в интактном полушарии не наблюдалось. При этом к седьмому дню после инсульта наблюдается тенденция к восстановлению нарушенного нейроваскулярного сопряжения.

Была также обнаружена корреляция между размером поражения и нарушением нейроваскулярного сопряжения, что подтверждает идею о том, что тяжесть инсульта усугубляет нарушения координации нейрональной и гемодинамической активности. Примечательно, что аналогичную динамику восстановления имели и показатели функциональной связанности активности полушарий, измеренные по кальциевым сигналам у трансгенных мышей с генетически кодируемым кальциевым сенсором Thy1-GCaMP6f. В совокупности это делает метод широкопольной оптической *in vivo* нейровизуализации сопряжения кальциевой нейрональной и сосудистой активности перспективным подходом к оценке тяжести экспериментального инсульта, а также динамики восстановительных процессов в коре головного мозга, что может дать ценную информацию для определения сроков терапевтических вмешательств и процедур для улучшения реабилитации.

Еще одним важным результатом диссертационной работы явилось обнаружение посредством построения карт гомологичной связанности кальциевых сигналов различий в межполушарной связанности не только переишемической области, но и отдаленных от очага инсульта областях. Такое изменение предсказывается тем, что при ишемическом повреждении мозга происходит перераспределение утраченных функций, и данные настоящего исследования показали, что использованный метод способен эффективно детектировать подобные растормаживание тех или иных областей коры, что может служить надежным индикатором перестроек работы нейронных сетей, определяющих качество восстановления нарушенных функций.

**Научная новизна и значимость работы.** Результаты, представленные в автореферате, являются новыми и оригинальными. Это обусловлено прежде всего тем, что само исследование нейроваскулярного сопряжения при фотоиндуцированном экспериментальном инсульте, оцененное по коэффициенту корреляции между амплитудой кальциевого и гемодинамического ответа в коре на сенсорную стимуляцию, а также по оценке взаимной корреляции  $\Delta[Ca^{2+}]_c$  и  $\Delta[HbT]$ , выполненное диссертанткой, проведено впервые. Поэтому Н.В. Лизуновой удалось получить новые и важные данные о наиболее воспроизводимых и чувствительных показателях тяжести морфологических и функциональных нарушений мозга при фототромбозе у мышей, а также динамике восстановления этих показателей во времени. Этим диссертационная работа Н.В. Лизуновой вносит значительный вклад в


понимание нервных основ нарушения нейроваскулярного сопряжения при инсульте и характера перераспределения активности мозга в процессе восстановления этих функций.

**Достоверность и обоснованность результатов исследования.** Полученные автором результаты достоверны, выводы и заключения обоснованы. Работа отличается использованием комплекса передовых современных нейробиологических методов исследования и базируется на достаточном статистическом материале. Достоверность результатов исследований обусловлена использованием адекватных методов статистической обработки. Автореферат написан стилистически грамотно и оформлен ясными, хорошими цветными иллюстрациями. По каждому разделу и работе в целом сделаны четкие выводы и заключения. Материал диссертации полно отражен в опубликованных автором работах (3 статьи в рецензируемых научных журналах).

Основываясь на автореферате, можно заключить, что диссертационное исследование Лизуновой Натальи Владимировны на тему «ОПТИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ИЗУЧЕНИЮ ИНСУЛЬТА: КОРТИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ И ГЕМОДИНАМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В МОДЕЛИ ФОТОТРОМБОЗА У МЫШЕЙ» является законченной научно-квалификационной работой, содержащей решение актуальной задачи — сформировать критерии для оценки морфофункциональных изменений коры мозга, вызванных фотоиндуцированной ишемией, с использованием метода широкопольной оптической нейровизуализации. Согласно автореферату, по методическому уровню, новизне и научно-практической значимости полученных результатов диссертация соответствует требованиям, предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. – Физиология человека и животных.

Директор Института  
перспективных исследований мозга  
МГУ имени М.В. Ломоносова  
академик РАН, д.м.н., проф.

К.В. Анохин

Подпись К.В. Анохина зав.   
зам. директора ИПИМ

«02» декабря 2024 г.  
В.М. Егикова