

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу **ХЛЕБНИКОВОЙ НАДЕЖДЫ НИКОЛАЕВНЫ «ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИНТЕГРАЦИИ В ГЕНЕЗЕ ДЕПРЕССИВНО-БОЛЕВЫХ И ТРЕВОЖНО-ДЕПРЕССИВНЫХ СИНДРОМОВ (экспериментальное исследование)»**, представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Современный человек расплачивается за создаваемые им цивилизационные блага. Некогда Н.П.Бехтерева сформулировала понятие «эмоционально несбалансированного мозга», которое включало комплекс психофизиологических заболеваний современного социума. В современном сообществе неуклонно возрастает распространенность психических и неврологических заболеваний, среди которых значительная доля принадлежит расстройствам эмоциональной и мотивационной деятельности. По данным ВОЗ к нарушениям эмоционально-мотивационной сферы относятся депрессивные и тревожные расстройства, немотивированная агрессивность, которые сочетаются с хроническими болевыми синдромами. Большие затраты на лечение расстройств смешанного типа, длительная нетрудоспособность пациентов, а также высокий процент попыток суицида подчеркивают социально-экономическую значимость проблемы.

Клинические исследования этих патологических состояний представляют самостоятельную проблему, когда сочетанные коморбидные («соболезненные») патологическими состояниями характеризуются трудно диагностируемыми и трудно компенсируемыми клиническими проявлениями. Одним из принципиальных путей в решении этих задач стоит необходимость разработки экспериментальных подходов нейрофизиологического, генетико-биохимического и фармакологического анализа. Диссертационная работа Н.Н. Хлебниковой ориентирована на рассмотрение проблемы именно в таком ключе.

СТРУКТУРА И СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Диссертационное исследование Хлебниковой Надежды Николаевны посвящено изучению системных патофизиологических механизмов сочетанных психоневрологических и эмоционально-мотивационных расстройств различного генеза.

Объемная и полновесная по своему содержанию диссертация изложена на 403 страницах, включающих все основные компоненты - введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, 6 глав собственных исследований, анализа (обсуждения) результатов, заключение, выводы. Список цитируемых статей составляет 867 источников. Работа иллюстрирована 51 рисунком и 44 таблицами.

Содержание диссертационной работы включает несколько экспериментальных блоков, выстраиваемых в единую доказательную концепцию.

1. Базовая часть исследования основана на разработке новых экспериментальных моделей сочетанного состояния боли и депрессии на фоне развития болевого синдрома и МФТП-вызванной депрессии у крыс. Разработанные модели позволяли производить анализ патогенеза этих синдромов в зависимости от исходного уровня тревожности.

2. При изучении патологических механизмов МФТП-индуцированного депрессивного, неврогенного болевого и сочетанных депрессивно-болевого синдромов выявлены изменения электрической активности различных структур мозга. В этом последовательном анализе учитывалась функциональная специфика зоны стриатума, фронтальной коры, гиппокампа, миндалина, прилежащего ядра мозга. Изменения паттернов электрической активности зон мозга (относительной спектральной мощности диапазонов) носили

дифференцированный характер, отражающий реализацию эмоционально-мотивационной деятельности мозга. Эти результаты позволяли осуществить сравнительный анализ нейропатофизиологических механизмов, и сопоставить их с биохимическими изменениями.

3. Биохимический аспект исследования включал определение изменений активности двух ферментов, участвующих в процессинге ключевых регуляторных пептидов в мозге. Изменения активности пролилэндопептидазы и дипептидилпептидазы IV и (ПЭП и ДП-IV); более того – нарушение соотношения этих регуляторных компонентов функции мозга резонно рассматривается как ведущий мотив дезорганизации нейрофизиологических процессов и формирования большого и «спутанного» спектра психо-неврологической патологии. Исследование роли пролиновых пептидаз в развитии депрессивно-подобных модельных состояний у крыс было соотнесено с характеристиками упомянутой выше электрофизиологической активности зон мозга.

4. Анализ вовлеченности структур ЦНС в патологическую систему депрессивных, тревожных и мотивационных расстройств рассматривается с традиционных представлений о патологических интеграциях, разработанных в отечественной школе патофизиологии (Г.Н. Крыжановский). Суммируя идею данной диссертационной работы в целом, следует указать, что именно такая позиция является доминирующей в организации и исполнении работы.

5. Изучение эффектов ингибиторов пролилэндопептидазы, химических структур с различными механизмами действия, на формирование патологических синдромов. Ингибиторы ПЭП оказывали антидепрессивное, анксиолитическое и антистрессорное действие. С помощью выбранных ингибиторов дипептидилпептидазы-IV (метионил-2(S)-цианопирролидина, дипротина А и ситаглиптина) были разработаны новые модели тревожно-депрессивного состояния со стресс-провоцируемой агрессией.

6. Столь же значимый современный аспект данного исследования, включает оценку экспрессии генов, кодирующих ПЭП и ДП-IV, а также белки нейромедиаторных систем. Этот раздел, выполненный, скорее, как «этюд», ибо его подробная разработка уводила бы основную канву в чрезвычайные тонкости нейрохимической физиологии, обозначает особые молекулярные аспекты сигнального управления высшими функциями мозга. Установлены факты экспрессии генов, кодирующих нейрорепептидазы на моделях смешанных тревожно-депрессивных состояний, вызванных действием ингибиторов дипротина А и ситаглиптина IV на второй-третьей неделях постнатального онтогенеза. Как следует из материалов диссертации, в патогенез таких состояний вовлечены не только гены, кодирующие ферменты ПЭП и ДП-IV, но и гены, кодирующие белки синтеза нейротрансмиттерных моноаминов.

ОБОСНОВАННОСТЬ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В диссертации разработаны три новые модели депрессивно-болевого синдрома на основе ранее созданной модели индуцированного депрессивного синдрома и модели неврогенного болевого синдрома, вызываемого перерезкой седалищного нерва крысы.

Также разработаны новые модели смешанных тревожно-депрессивных состояний у крыс подросткового возраста и взрослых животных путем неонатального введения ингибиторов ДП-IV. Применение методов оценки поведенческого состояния животных с помощью классических тестов, а также выявление изменений электрофизиологической активности зон мозга подтвердили правомерность выбранной методики исследования в целом.

Важный раздел работы представили исследования активности двух пролиновых пептидаз, а также содержания моноаминов и их метаболитов в структурах мозга крыс.

Определение уровня экспрессии генов, определяющих синтез ферментов и функционально значимых белков, логически завершает общий план данного раздела исследования. Все использованные методические подходы и конкретные приемы анализа представляют собой достоверные и широко используемые в мировой практике методы исследования.

Оценка результатов сопровождалась статистической обработкой, представляемой в таблицах, рисунках и тексте диссертации. Следует отметить особую тщательность и корректность представленных в диссертации результатов столь широкого и разнопланового исследования.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработаны новые модели депрессивно-болевого синдрома, описана их феноменология и электрофизиологические корреляты, проанализирована зависимость течения процесса от исходного уровня тревожности.

На основе анализа спектральных показателей электрофизиологической активности впервые установлено, что в формирование модельного депрессивного синдрома вовлечены области мозга, являющиеся терминальными полями центральных дофаминергических nigростриатной, nigроамигдаллярной, мезокортикальной и мезолимбической систем мозга.

Впервые установлено, что тяжесть возникающих поведенческих изменений у крыс определяется последовательностью патогенных воздействий и степенью развития первичного нейропатологического синдрома, на фоне которого развивается вторично индуцированный синдром. Развитие нейрогенного болевого синдрома на фоне выраженной депрессии поведения приводит к пролонгированию депрессивно-подобного состояния с усилением тяжести болевой симптоматики.

Получены новые данные об участии пролинспецифических пептидаз (ПЭП и ДП-IV) в патогенезе эмоционально-мотивационных нарушений: каталитическая активность ферментов повышается в структурах мозга, которые, по результатам электрофизиологических исследований, входят в патологическую нейронную интеграцию, обуславливающую развитие депрессивно-подобного поведения разной этиологии. Практически значимым оказывается вывод, что исследованные ингибиторы нейропептидаз ПЭП и ДП-IV оказывают антидепрессивное, анксиолитическое и антистрессорное действие.

Разработаны новые модели смешанного тревожно-депрессивного состояния со стресс-провоцируемой агрессией, вызываемого действием ингибиторов фермента ДП-IV у неонатальных крыс.

Обоснована возможность использования новых моделей сочетанных нарушений и экстраполяции экспериментальных данных в клинику для новых подходов в исследовании коморбидных расстройств.

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРА

Все разделы экспериментальной работы выполнены лично диссертантом. Весь комплекс поведенческих исследований, подготовка проб для нейрохимических и молекулярных исследований, иммуноферментный анализ, обработка первичных данных и статистическая оценка выполнены лично автором. В использовании ряда методов учитывалось участие коллег и консультаций родственных лабораторий, корректно указанных в диссертации и в автореферате. Основная разработка общего плана, аналитическая работа и выводы выполнены при участии научного руководителя д.б.н. Н.А.Крупиной.

СВЕДЕНИЯ О ПОЛНОТЕ ОПУБЛИКОВАННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Основные результаты работы опубликованы в журналах, входящих в Перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК, и в изданиях, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования. В период последних 15-ти лет диссертант принимала участие в работе многочисленных российских и зарубежных научных конференций, представляя основные данные исследований. По материалам диссертации опубликовано 58 работ (статей и тезисов конференций) на русском и английском языках, в том числе 27 статей в журналах, соответствующих критериям списка ВАК.

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ И ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ РАБОТЫ

Полученные в диссертационном исследовании данные вносят существенный вклад в понимание нейрпатофизиологических механизмов развития депрессивных состояний, хронической боли и депрессивно-болевого клинического синдромов.

Результаты экспериментального исследования конкретизируют механизмы патогенеза тревожно-аффективных расстройств, подчеркивая важную роль пролинспецифических пептидаз – ДП-IV и ПЭП – в структурах мозга, причастных к процессам дисрегуляции и дисфункции эмоционально-мотивационной сферы. Для экспериментальной терапии тревожно-депрессивных состояний продемонстрирована возможность применения ингибиторов пролилпептидаз, ограничивающих цепочку молекулярных патогенетических процессов в мозге.

Разработанные модели сочетанного состояния боли и депрессии, а также смешанного тревожно-депрессивного состояния с повышенной агрессивностью могут быть использованы в последующих исследованиях механизмов коморбидных расстройств эмоционально-мотивационной сферы. Ведущей задачей этого тренда может служить определение прогностических критериев заболевания и выработки стратегии терапевтического воздействия. Разработанные в диссертации Н.Н. Хлебниковой модели могут также применяться для скрининга новых фармакологических соединений с антидепрессантными и анксиолитическими свойствами.

Основные положения диссертации Н.Н. Хлебниковой – концептуальные выводы о патогенезе депрессивно-эмоциональных расстройств, интегративных законах сочетанного влияния различных заболеваний, практические соображения о таргетной роли ингибиторов нейропептидаз и др. информация могут быть использованы в специальных лекциях и практикумах для специалистов-патофизиологов, нейрохимиков, врачей, аспирантов. Эти материалы содержат новые сведения и обоснованные заключения, важные для теории и практики современных специалистов.

ОБОСНОВАННОСТЬ ОСНОВНЫХ ВЫВОДОВ РАБОТЫ

Основные результаты работы, включавшей комплекс модельных, электрофизиологических, биохимических и генетических данных, суммированы в 8 выводах. Богатый иллюстративный материал (таблицы, рисунки), а также корректный анализ каждого раздела исследований и проблемы в целом достоверно отражают обоснованность этих выводов.

Результаты данной диссертации можно сформулировать в нескольких тезисах, которые представлены как положения, выносимые на защиту.

1. Тяжесть возникающих поведенческих изменений при моделировании сочетанного состояния депрессии и боли у крыс определяется последовательностью патогенных воздействий, а прогноз течения депрессивно-болевого синдрома зависит от степени

развития первичного нейропатологического синдрома, на фоне которого развивается вторично индуцированный синдром. Исходно низкий тревожно-фобический уровень определяет более тяжелое течение неврогенного болевого синдрома и сочетанных состояний депрессии.

2. Специфика изменений электрической активности во фронтальной коре, стриатуме и лимбических структурах мозга крыс, выявляемых на моделях неврогенного болевого синдрома, дофамин-дефицитзависимого депрессивного синдрома и сочетанных состояний депрессии и боли, свидетельствуют о формировании качественно новых патологических механизмов дезинтеграции ЦНС.

3. Пролинспецифические пептидазы дипептидилпептидаза-IV и пролилэндопептидаза участвуют в патогенезе эмоционально-мотивационных расстройств, о чем свидетельствует повышение активности этих пептидаз в структурах мозга крыс. Доказывается возможность усиления эмоционально-мотивационных нарушений введением ингибиторов ДП-IV различной химической структуры в постнатальный период. С помощью ингибиторов ферментов моделируется новая патологическая форма - смешанного тревожно-депрессивного состояния в ювенильной фазе развития и у взрослых животных.

4. В постнатальном онтогенезе установлена экспрессия генов, кодирующих пролилэндопептидазу и дипептидилпептидазу-IV в структурах стриатума на моделях смешанных тревожно-депрессивных состояний.

Содержание этих выводов свидетельствует о высокой значимости результатов диссертационной работы, которые следует квалифицировать как новое крупное достижение, которое вносит существенный вклад в представления о системных нейропатофизиологических механизмах развития сочетанных состояний депрессии, тревоги и боли.

ЗАМЕЧАНИЯ И ВОПРОСЫ ПО ДИССЕРТАЦИИ

Критические замечания относятся в основном к терминологической и стилистической позиции автора.

1. Есть претензии к литературной стилистике. Диссертант часто использует сложные терминологические конструкции (пример - название диссертации). Возможно ли употребление в русской лексике множественного числа понятий «патологий», «интеграций»? Часто употребляемый термин «нейронные интеграции» на уровне современного знания выглядит как абстрактная конструкция. Неуместно, на наш взгляд, частое употребление понятия «модуляция активности», когда речь идет о влиянии ингибиторов на активность ферментов.

2. Выводы написаны излишне подробно; их редакция могла бы быть более строгой.

3. В работе акцентировано внимание на изменения активности пролилпептидаз ПЭП и ДП-IV, которые следует с точки зрения классической биохимии рассматривать как инструменты процессинга (последовательного химического гидролиза) больших и малых пептидов. В этом контексте, на наш взгляд, выглядят недостаточно обоснованными выводы о возможной роли пролинспецифических пептидаз в развитии аффективных нарушений и возможности оценить их роль как *системообразующего фактора* в формировании патологических интеграций.

СООТВЕТСТВИЕ АВТОРЕФЕРАТА ОСНОВНЫМ ПОЛОЖЕНИЯМ ДИССЕРТАЦИИ

Автореферат диссертации Хлебниковой Н.Н. полностью соответствуют основным положениям диссертации, в нем отражены актуальность темы, научная новизна, практическая значимость, основные результаты, их обсуждение и выводы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация Хлебниковой Надежды Николаевны «ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИНТЕГРАЦИИ В ГЕНЕЗЕ ДЕПРЕССИВНО-БОЛЕВЫХ И ТРЕВОЖНО-ДЕПРЕССИВНЫХ СИНДРОМОВ (экспериментальное исследование)», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 14.03.03 - Патологическая физиология, является законченной и цельной научно-квалификационной работой. Все представленные выводы обоснованы и базируются на самостоятельно полученных автором материалах и результатах, их обработке и интерпретации. Оформление работы отвечает всем требованиям ВАК, предъявляемым к докторским диссертациям. Исследование Хлебниковой Н.Н. посвящено актуальной и важной для современного общества проблеме изучения патогенеза сочетанных психоневрологических нарушений, проведено с использованием обширного набора современных методов, содержит совершенно новые данные, которые имеют большое научное и практическое значение. По актуальности, новизне, научно-практической значимости диссертация полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденным постановлением правительства РФ от 24.09.13 номер 842 (с изменениями в редакции постановлений Российской Федерации №335 от 21.04.2016 г., №748 от 02.08.2016 г.), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор, Хлебникова Надежда Николаевна, заслуживает искомой степени доктора биологических наук по специальности 14.03.03 – «патологическая физиология».

Официальный оппонент:

главный научный сотрудник

отдела биоинформатики

Федерального государственного бюджетного научного учреждения

«Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»,

доктор биологических наук, профессор

Олег Александрович Гомазков

Телефон: +7(499) 246-09-20

E-mail: oleg-gomazkov@yandex.ru

Подпись О.А. Гомазкова заверяю:

Ученый секретарь

Федерального государственного бюджетного научного учреждения

«Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», к.х.н.

Е.А. Карпова

«28» сентября 2017 г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», 119121, Россия, г. Москва, ул. Погодинская, д. 10/8. Телефон: +7 (499) 246-69-80, +7 (499) 246-34-66; Факс: +7 (499) 245-08-57; E-mail: inst@ibmc.msk.ru