

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Ширеновой Софьи Дмитриевны «Когнитивные и эмоционально-мотивационные нарушения у самцов и самок крыс, подвергнутых длительной социальной изоляции: патофизиологические механизмы», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология.

Актуальность исследования

Диссертационная работа С.Д. Ширеновой посвящена исследованию актуальной проблемы патофизиологии – изучению последствий стресса длительной социальной изоляции. Социальная изоляция, как психоэмоциональный стресс, имеет выраженные негативные последствия для физического и психического здоровья человека. Аверсивный социальный опыт в раннем возрасте может приводить к патологическим изменениям социального поведения, эмоциональной регуляции, нарушениям развития мозга в виде изменений нейропластичности. Изучение механизмов воздействия этого вида стресса с использованием моделей на животных необходимо для дальнейшей разработки патогенетической терапии выявляемых нарушений, а также потенциальных протективных методов фармакологического и немедикаментозного воздействия. Исследование нарушений поведения и нейрохимических показателей у грызунов обоего пола, подвергнутых длительному стрессу социальной изоляции, в полной мере отвечает этой научной проблеме.

Интерес исследователей к проблеме негативного воздействия социальной изоляции нашел отражение в большом числе научных работ, однако существующие научные данные имеют ряд ограничений. В частности, большинство экспериментальных исследований в этой области были проведены только на самцах животных. Данных о воздействии социальной изоляции на самок грызунов, а также работ, в которых использовали животных обоего пола, критически мало. В работе С.Д. Ширеновой проведен сравнительный анализ нарушений, вызванных социальной изоляцией у самцов и самок крыс. Кроме того, изучены последствия пролонгированной многомесячной социальной изоляции. Такой подход повышает значимость модели для трансляционных исследований.

Сказанное определяет актуальность диссертационной работы С.Д. Ширеновой, а также полное соответствие темы исследования научной специальности 3.3.3. Патологическая физиология.

Научная новизна исследования

В диссертационном исследовании автором получены принципиально новые данные. Обнаружены изменения социального поведения животных обоего пола: как у самцов, так и у самок после 2-х месяцев социальной изоляции число и время социальных контактов было увеличено, но только у самок на этом сроке выявлены признаки агрессивности. На более поздних сроках пролонгированной социальной изоляции признаков повышения социального интереса выявлено не было; а в серии, выполненной на самках, получены данные, свидетельствующие о снижении предпочтения «социальной новизны».

Показано, что при увеличении длительности социальной изоляции на срок более 4-х месяцев у крыс могут развиваться признаки снижения тревожности, более выраженные у самок, чем у самцов. При этом на более ранних сроках социальной изоляции у самок обнаружены признаки повышения уровня тревожности.

Впервые описана динамика воздействия длительной социальной изоляции на болевую чувствительность. С возрастом пороги болевых реакций, измеренные в тесте «Hot Plate», снижались как у крыс контрольной группы, так и у животных, которых содержали в социальной изоляции, однако, у крыс опытной группы повышение болевой чувствительности с возрастом происходило медленнее.

В работе диссертанта применен оригинальный метод оценки эффективности обучения и долговременной памяти. Показано, что социальная изоляция нарушает ассоциативное обучение и пространственную память, а напоминание спустя несколько месяцев после обучения менее эффективно для восстановления навыка у крыс, подвергнутых социальной изоляции, по сравнению с крысами, жившими в группах. Выявленные нарушения пространственной памяти были более выражены у самок крыс, чем у самцов.

Анализ биохимических показателей выявил половые различия в эффектах социальной изоляции. Только у самок обнаружено увеличение относительного веса надпочечников после 9-ти и 10-ти месяцев социальной изоляции. Повышения базального уровня основного гормона стресса – кортикостерона – в крови не выявлено, но у крыс обоего пола была увеличена экспрессия рецепторов глюкокортикоидов во фронтальной коре мозга. У самцов, но не у самок обнаружено снижение экспрессии этих рецепторов в гиппокампе.

Изменение экспрессии интерлейкинов IL-1 β и IL-6 обнаружены только в структурах мозга самок. При длительной социальной изоляции наблюдалось преимущественно снижение экспрессии этих цитокинов в структурах мозга. У самок, но не у самцов на поздних сроках социальной изоляции выявлено снижение экспрессии предшественника нейротрофического фактора мозгового происхождения и повышение экспрессии пролинспецифических пептидаз в структурах мозга. У самцов после 9 месяцев социальной изоляции выявлено снижение пролилэндопептидазы в стриатуме.

Впервые на поздних сроках социальной изоляции (9 месяцев) у крыс обоего пола изучено состояние основных моноаминергических систем. Социальная изоляция привела к повышению уровня дофамина во фронтальной коре мозга и гипоталамусе, повышению содержания серотонина во фронтальной коре, гипоталамусе и стриатуме, и повышению содержания норадреналина в стриатуме. Только у самок был снижен уровень норадреналина в гиппокампе и повышен уровень метаболита дофамина 3-МТ в гипоталамусе.

Достоверность и обоснованность результатов исследования

Достоверность представленных результатов не вызывает сомнений, поскольку она обеспечена современным научным и методическим уровнем работы. В диссертации использованы объективные экспериментальные методы, адекватные поставленным задачам. Выборка полностью репрезентативна. Обзор научной литературы характеризует проблему подробно и с использованием современных источников научных данных. Полученные в работе результаты соответствуют цели и задачам исследования, подвергнуты корректной статистической обработке с применением параметрических и непараметрических методов. Данные, полученные в исследовании, интерпретированы корректно.

Положения, выносимые на защиту, основаны на результатах, полученных в ходе исследования, и представляются в достаточной мере аргументированными. Выводы соответствуют поставленным задачам, логично вытекают из полученных в диссертации экспериментальных данных и согласуются с положениями, выносимыми на защиту.

Материалы диссертационной работы в необходимом объеме отражены в 11 печатных работах, включающих 4 статьи в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК РФ. Результаты исследования

были представлены для обсуждения на 7 научных конференциях и конгрессах с международным участием и опубликованы в сборниках докладов.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическое значение работы состоит в расширении имеющихся представлений о патофизиологических механизмах возникновения и развития нарушений поведения, эмоциональной регуляции и когнитивных функций, а также о механизмах адаптации к хроническому социальному стрессу. Полученные в ходе выполненного исследования результаты могут быть использованы специалистами по изучению патофизиологии стресса длительной социальной изоляции и быть полезными для клинической практики. Модель длительной социальной изоляции можно рекомендовать для дальнейшего изучения специфических для пола механизмов когнитивных и эмоционально-мотивационных нарушений, а также расстройств болевой чувствительности с учетом индивидуальных особенностей реагирования на социальный стресс. Модель также может быть использована для разработки патогенетической терапии последствий длительной социальной изоляции, в первую очередь, для тестирования потенциальных фармакологических средств с ноотропными эффектами. Материалы работы могут быть использованы в курсах преподавания нормальной и патологической физиологии.

Объем и структура работы

Материалы диссертационной работы изложены на 215 страницах печатного текста, включая список литературы, представлены в 9 таблицах и иллюстрированы 14 рисунками. Диссертация построена традиционно, оформлена в соответствии с требованиями ГОСТ и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы с экспериментальными результатами, обсуждения, заключения, выводов, и списка цитируемой литературы, который содержит 33 источника на русском и 313 источников на английском языках.

Общая характеристика работы

Диссертация построена по традиционному плану, приведено оглавление разделов и список используемых сокращений.

В разделе «**Введение**» с опорой на современные данные научной литературы приведено обоснование актуальности выбранной темы, четко сформулирована цель исследования, определены конкретные задачи для ее достижения. Автором доступно описана научная новизна полученных результатов, их теоретическая и практическая значимость, сформулированы три положения, выносимые на защиту. Приведена информация об апробации работы, публикации результатов и личном вкладе автора.

Глава «**Обзор литературы**» содержит определения используемых понятий, сведения о современных представлениях в данной области, перспективные направления для будущих исследований. Приведенные в этом разделе данные свидетельствуют об обоснованности цели и задач диссертационной работы. Со ссылками на многочисленные источники научной литературы автор дает четко структурированное описание последствий социальной изоляции у человека, приводит историю изучения механизмов воздействия этого вида стресса в моделях на грызунах. Особое внимание автор уделяет тем немногим исследованиям, которые были проведены на самках. Подробно рассмотрены факторы, которые могут опосредовать эффекты социальной изоляции в лабораторных исследованиях. В конце главы автор подводит краткие итоги теоретического анализа современного состояния проблемы изучения влияния социальной изоляции. В целом, литературный обзор отражает хорошую ориентированность автора в сфере его научных интересов и дает читателю полноценное представление о современном состоянии проблемы, решаемой в диссертации.

В главе «**Материалы и методы исследования**» автор приводит описание использованных в работе методов. Представлены сведения о размере выборки и дизайне исследования, наглядно отображенные в 2 рисунках. Обосновано проведение каждой из трех серий экспериментов в соответствии с задачами этих серий. Подробно описаны методы изучения поведения и модификации, предложенные автором. Четко представлена последовательность проведения обследования на каждом из изученных сроков социальной изоляции. Раздел дает полное представление об алгоритмах сбора биологического материала, подготовки соответствующих проб и проведения анализа биохимических показателей. Приведены необходимые данные о производителе приборов и реактивов. Обоснован выбор методов статистического анализа.

Глава «**Результаты исследования**» содержит описание полученных в ходе исследования данных для каждой из трех серий экспериментов.

Подразделы главы выделены в соответствии с использованными тестами оценки поведения и методами анализа биологического материала – иммуноферментного анализа, Вестерн-блот анализа и высокоэффективной жидкостной хроматографии. Приведенные в разделе таблицы и схемы отражают полученные результаты и способствуют их обобщенному восприятию. Указанные цифровые значения корректно отражают результаты статистического анализа, что подтверждает надежность полученных данных.

В главе «**Обсуждение результатов**» автор дает критических анализ полученных в ходе исследования результатов, сопоставляет данные разных серий, обобщает эффекты, выявленные в разных тестах поведения и выявленные изменения физиологических и нейрохимических показателей. Предложена авторская интерпретация полученных результатов с учетом данных, полученных другими исследователями. Отдельно подчеркивается эффективность предложенного подхода к изучению долговременной памяти с дополнительной проверкой памяти через несколько месяцев после обучения, напоминанием и проверкой памяти после напоминания.

Раздел «**Заключение**» содержит обобщение изложенных в диссертации результатов и концептуальное положение о том, что в основе большей подверженности самок воздействию социальной изоляции по сравнению с самцами могут лежать те изменения активности катехоламинергических систем, которые обнаружены только у самок – снижение уровня NA в гиппокампе и усиление метаболизма DA в гипоталамусе, а также снижение экспрессии провоспалительных цитокинов и активация пролинспецифических пептидаз в структурах мозга.

Диссертация завершается 8 выводами и списком цитируемой литературы. Список литературы выверен.

Работа написана грамотным научным языком, читается с интересом. Разделы и главы структурированы, понятно названы и представлены в логической последовательности. Все заимствованные сведения сопровождаются корректными ссылками на источники.

Автореферат диссертации соответствует требованиям ВАК РФ, изложен на 25 страницах, соответствует содержанию работы, отражает ее основные результаты, положения и выводы. Встречающиеся в текстах диссертации и автореферата единичные опечатки и неудачные выражения не портят в целом *положительное* впечатление от работы.

Замечания и вопросы по диссертации

Наряду с отмеченными достоинствами диссертации, в ней имеются незначительные недостатки. Кроме того, при ознакомлении с работой возникло несколько дискуссионных вопросов.

Замечания:

1. Несмотря на корректную постановку задач исследования, их общее число кажется чрезмерным. Возможно, при формировании конкретных пунктов этого раздела диссертации, следовало бы некоторые из них обобщить.
2. В обзоре литературы очень подробно и глубоко описаны различные экспериментальные способы социальной изоляции, причем автор делает акцент на том, что вне зависимости от вида модели, все они относятся к моделям стресса. Однако в обзоре литературы практически отсутствуют сведения о физиологии стресса, включая нейроиммуноэндокринную регуляцию его формирования. Указанные сведения могли бы служить предпосылкой для более развернутого обсуждения полученных в исследовании результатов.

Вопросы:

1. Какую задачу ставил перед собой автор при использовании двух тестов («Hot Plate» и «Tail Flick») для оценки ноцицептивной чувствительности у экспериментальных животных? И в чем, на взгляд автора, различие этих методов?
2. Почему автором был выбран период отсаживания крысят от матери именно в возрасте 26 – 36 дней (соответствующий подростковому периоду)?

Высказанные замечания и вопросы не являются принципиальными и не умаляют достоинств диссертационной работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Ширеновой Софьи Дмитриевны на тему «Когнитивные и эмоционально-мотивационные нарушения у самцов и самок крыс, подвергнутых длительной социальной изоляции: патофизиологические механизмы» является целостным, законченным научно-квалификационным

трудом. Приведенные результаты и положения о нарушениях, вызванных длительной социальной изоляцией актуальны, обладают несомненной научной новизной, имеют теоретическую и практическую значимость.

По актуальности темы, методическому и научному уровню, новизне и научно-практической значимости полученных результатов, обоснованности научных положений и выводов диссертация соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, (с последующими редакциями), предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор Ширенова Софья Дмитриевна заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология.

Доктор медицинских наук,
ведущий научный сотрудник,
заведующий лабораторией системных
механизмов эмоционального стресса
ФГБНУ «НИИНФ им. П.К. Анохина»

Абрамова Анастасия Юрьевна

Тел.: +7 (916) 492 30 52
e-mail: nansy71@mail.ru

Наименование организации: Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение «Научно-исследовательский институт нормальной
физиологии имени П.К. Анохина»
125315, г. Москва, Балтийская ул., д. 8.

Подпись д.м.н. А.Ю. Абрамовой заверяю:
Начальник отдела кадров



О.А. Кузина

«15» ноября 2022 г.