

**ОТЗЫВ официального оппонента
Григорьяна Григория Агаларовича
на диссертацию Ширеновой Софьи Дмитриевны
«Когнитивные и эмоционально-мотивационные нарушения у самцов и самок крыс,
подвергнутых длительной социальной изоляции: патофизиологические механизмы»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 3.3.3. Патологическая физиология (биологические науки)**

Актуальность темы исследования

Диссертационное исследование С.Д. Ширеновой относится к работам, которые затрагивают фундаментальную медико-биологическую проблему изучения последствий социальной изоляции для функционирования центральной нервной системы и выяснения механизмов их развития. Ситуаций, в которых человек может оказаться в социальной изоляции, немало. Проблема приобретает особую актуальность в условиях развития пандемий, когда по рекомендациям Всемирной Организации здравоохранения в качестве профилактической меры рекомендуется в той или иной степени выраженная социальная изоляция, то есть снижение социальных контактов между людьми путем введения простых ограничительных мер или полного запрета социального взаимодействия на достаточно продолжительное время.

Социальная изоляция является тяжелым психоэмоциональным стрессом, который приводит к расстройствам как психического, так и физического здоровья человека. Возраст, в котором началось действие стрессора, во многом определяет паттерн возникающих нарушений. Есть данные о том, что социальная изоляция повышает риск смерти сильнее, чем курение и алкоголь, и это связано, в первую очередь, с развитием сердечно-сосудистых заболеваний. В последнее время социальную изоляцию и низкую социальную поддержку считают предикторами этих расстройств.

Влияние социальной изоляции на ЦНС может проявляться развитием тревожности, агрессивности и депрессий, нарушением когнитивной деятельности. Социальная изоляция является фактором риска развития деменции. Недавно получены свидетельства того, что структурные изменения в головном мозге, выявленные у социально изолированных индивидуумов, ассоциированы со снижением когнитивных функций. Проживание в условиях социальной изоляции влияет на функционирование гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси, что изменяет ответ организма на стресс. Эффект гормонально зависим. Однако, несмотря на большую медико-социальную значимость проблемы, патофизиологические механизмы расстройств, возникающих под влиянием социальной изоляции, особенно длительной, изучены недостаточно, а, значит, не определены мишени для разработки эффективной фармакотерапии таких состояний.

Экспериментальное моделирование социальной изоляции у животных, проживающих в группах, дает возможность прояснить патогенез возникающих нарушений и выявить различия в эффектах у особей разного пола. В свете сказанного особого внимания заслуживает изучение состояния нейромедиаторных систем и изменения цитокинов, опосредующих функционирование гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси при действии стрессоров.

В работе С.Д. Ширеновой были изучены особенности когнитивных, эмоционально-мотивационных нарушений и нейрохимических механизмов их развития у самцов и самок крыс, подвергнутых длительной социальной изоляции, начинающейся в раннем возрасте и продолжающейся в течение нескольких месяцев, что, в контексте сказанного выше, определяет несомненную актуальность данного диссертационного исследования.

Общая характеристика диссертации, её завершенность

Диссертация построена по традиционному плану, включает следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты», «Обсуждение», «Заключение», «Выводы» и список использованной литературы. Работа изложена на 215 страницах, включает 14 рисунков и 9 информативных таблиц, представляющих полученные результаты. Список литературы содержит 346 источников, в него входят 33 отечественных источника (включая публикации автора диссертационного исследования) и 313 зарубежных.

Обзор литературы достаточно большой по объему, занимает 44 страницы. Он включает 6 разделов, охватывающих проблемы, имеющие прямое отношение к теме диссертационного исследования.

В первом разделе кратко рассмотрено само понятие социальной изоляции в его современном представлении. Во втором разделе диссертант обобщает накопленные факты, характеризующие последствия социальной изоляции у человека, и привлекает новейшие данные по развитию дистресса у человека в условиях вынужденной длительной социальной изоляции в период пандемии COVID-19, подчеркивает негативное влияние социальной изоляции (депривации) у детей, акцентируя внимание на расстройствах эмоционального и мотивационного спектра и нарушении когнитивных способностей. В этом разделе автор проводит параллели между болевой чувствительностью и социальной изоляцией с эволюционной точки зрения: восприятие изоляции от социальной группы сигнализирует об угрозе выживания организма, так же как физическая боль стимулирует защитный ответ. Диссертант рассматривает связь соматических заболеваний с дисбалансом нервной, иммунной и эндокринной систем при социальной изоляции и логически завершает первый раздел данными об увеличении риска общей смертности при социальной изоляции независимо от состояния здоровья, образа жизни и социально-экономического положения.

Третий раздел обзора посвящен проблемам экспериментального моделирования социальной изоляции у животных. Диссертант рассматривает выявленные к настоящему моменту нарушения поведения и когнитивных функций, обращает внимание на противоречивость данных и подчеркивает, что не достаточно изучены последствия длительной, многомесячной социальной изоляции, поскольку в большинстве работ продолжительность социальной изоляции не превышает трех месяцев.

В четвертом разделе диссертант проанализировал объемный фактический материал по патофизиологическим механизмам развития нарушений, возникающих вследствие социальной изоляции. В отдельных подразделах описано функционирование гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси при социальной изоляции, рассмотрено состояние органов-маркеров стресса, нейромедиаторных систем, рецепторов и сигнальных молекул в

головном мозге, цитокинов с про- и противовоспалительным действием. Интересен подраздел с описанием пластических изменений в структурах мозга при социальной изоляции.

В пятом разделе обзора литературы рассмотрены эффекты пролинспецифических пептидаз – пролилэндопептидазы и дипептидилпептидазы-4, опосредующих многие процессы в организме и вовлеченных в нарушения психической деятельности, когнитивных функций и воспаления. Автор подчеркивает, что данные о вовлеченности этих пептидаз в развитие последствий социальной изоляции единичны, и до настоящего времени остается не ясным, изменяется ли их экспрессия в ЦНС при многомесячной социальной изоляции.

В шестом разделе обзора литературы диссертант подводит итоги проведенного анализа и обосновывает необходимость проведения исследований по эффектам длительной социальной изоляции у крыс обоего пола.

В целом, обзор литературы написан обстоятельно, оставляет хорошее впечатление, свидетельствует о глубоком понимании проблемы и о хорошей научно-теоретической подготовке диссертанта.

В разделе «*Материалы и методы исследования*» приведены подробные схемы трех серий многомесячных исследований, что можно приветствовать, поскольку это облегчает сопоставление многочисленных экспериментальных данных, полученных в разных сериях. В работе были применены адекватные методы анализа поведения (оценка ориентировочно-исследовательской активности, уровня тревожности и депрессивности, социального взаимодействия, включая агрессивные контакты, «социальной новизны»), болевой чувствительности, обучения и памяти, определения стадий эстрального цикла. Биохимические и нейробиохимические исследования проведены с применением иммуноферментного и Вестерн-блот анализа, высокоэффективной жидкостной хроматографии. Статистическая обработка данных выполнена в соответствии с современными требованиями. В целом, эффективное применение диссертантом указанных методов исследования свидетельствует о его качественной научно-квалификационной подготовке.

Раздел «*Результаты*» занимает более 40 страниц и включает 11 подразделов. Автор последовательно приводит результаты оценки эмоционально-мотивационного поведения, социального взаимодействия, обучения и памяти у самцов и самок крыс в динамике социальной изоляции в разных сериях, подробно описывает изменения экспрессии выбранных белков, уровня моноаминов и их метаболитов в структурах мозга.

Обсуждение результатов проведено подробно, с выделением подразделов, соответствующих результатам, полученным в каждом разделе экспериментального исследования. Завершается диссертационная работа кратким заключением и обоснованными выводами, отражающими основное содержание работы в полном соответствии с поставленными задачами, что свидетельствует о завершенности диссертационного исследования.

Научная новизна

В диссертационной работе С.Д. Ширеновой получены приоритетные данные о сходстве и различии в оценках поведения и когнитивных функций у самцов и самок крыс,

подвергнутых многомесячной социальной изоляции, начиная с раннего подросткового возраста.

У самок крыс социальная изоляция могла повышать уровень тревожности в первые месяцы действия стрессора, но после 9 месяцев изоляции у крыс обоего пола обнаружено снижение уровня тревожности, что с высокой вероятностью свидетельствует о развитии адаптационных процессов. Такие изменения в эмоциональной сфере сопровождались развитием устойчивой гиперактивности у животных и снижением реакции на новизну. На протяжении 9 месяцев социальной изоляции ни у самцов, ни у самок крыс не было выявлено признаков депрессивно-подобного поведения.

Усиление неагрессивного социального взаимодействия обнаружено у крыс обоего пола на ранних сроках социальной изоляции, однако, только у самок такое усиление впервые наблюдали и после 4.5 месяцев социальной изоляции, наряду с повышенной агрессивностью, которая была у них обнаружена уже после 2 месяцев социальной изоляции. В специальных исследованиях у самок выявлено снижение предпочтения «социальной новизны» после многих месяцев изоляции.

Новым является и обнаруженный в диссертации факт более медленного повышения с возрастом болевой чувствительности у крыс, которых содержали в условиях длительной социальной изоляции. Этот результат стало возможным получить при использовании предложенной модели длительной социальной изоляции по оценкам динамики болевой чувствительности.

У крыс были выявлены выраженные нарушения когнитивных функций после нескольких месяцев социальной изоляции по показателям ассоциативного обучения и пространственной памяти. В диссертационной работе применен оригинальный прием проверки сохранения навыков у крыс спустя 4 месяца после их выработки. Перед проверкой, в зависимости от теста, проводили одну или две пробы с напоминанием. Интересно, что даже спустя месяцы после обучения крысы демонстрировали признаки частичного сохранения пространственной памяти. Для её восстановления напоминание, независимо от пола животных, было менее эффективным у тех крыс, которых содержали в изоляции. В тесте условного рефлекса пассивного избегания навык, утраченный самками контрольной группы через 4 месяца после выработки, восстанавливался после однократного напоминания, а не обучившиеся самки, жившие в условиях социальной изоляции, после напоминания демонстрировали пассивное избегание. Развитие исследований по изучению сохранения и восстановления памяти после длительной социальной изоляции может быть перспективным направлением в дальнейших исследованиях.

Выявлены половые различия в действии длительной социальной изоляции на вес органов-маркеров стресса. Основные изменения по увеличению веса селезенки и надпочечников обнаружены у самок крыс. Обобщая результаты, полученные в разных сериях, диссертант делает обоснованное заключение об увеличении уровня глюкокортикоидных рецепторов во фронтальной коре мозга у крыс обоего пола после нескольких месяцев социальной изоляции. По совокупности, полученные данные свидетельствуют об изменении в функционировании гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси.

Очень интересны принципиально новые данные по снижению экспрессии предшественника нейротрофического фактора мозга proBDNF в той или иной структуре

мозга у самок крыс, которых содержали в социальной изоляции. Только у самок после 9 месяцев изоляции оказался повышен уровень синаптофизина в гиппокампе. И только у самок было обнаружено повышение экспрессии пролилэндопептидазы в гиппокампе, а дипептидилпептидазы-4 – в гиппокампе и фронтальной коре на разных сроках социальной изоляции. У самцов же выявлено снижение экспрессии пролилэндопептидазы в стриатуме после 9 месяцев социальной изоляции. Автор высказывает интересное предположение о том, что выявленные изменения в уровне предшественника BDNF и пролилэндопептидазы могут отражать включение разных адаптационных механизмов у самцов и самок крыс в ответ на патогенное действие социальной изоляции.

И вновь только у самок, находившихся в условиях социальной изоляции, автору удалось выявить преимущественно снижение экспрессии цитокинов с провоспалительным действием IL-6 и IL-1 β в структурах мозга.

В опытах на самках, по мере увеличения срока социальной изоляции, прослежена динамика экспрессии глюкокортикоидных рецепторов, маркеров нейропластичности proBDNF и SYP, цитокинов с провоспалительным действием IL-6 и IL-1 β , а также пролинспецифических пептидаз DPP4 и PREP в структурах мозга, что представляет особый интерес для понимания механизмов формирования ответной реакции организма при пролонгировании негативного действия стрессора.

Оценка состояния основных моноаминергических систем мозга у крыс после девятимесячной социальной изоляции выявила специфические для структур изменения, выразившиеся в повышении уровня дофамина и его оборота, повышении уровня серотонина и норадреналина. Эти изменения были обнаружены у крыс обоего пола, но только у самок выявлены дополнительные изменения катехоламинергических систем в гиппокампе и гипоталамусе.

Научно-практическая значимость

Результаты диссертационного исследования С.Д. Ширеновой углубляют существующие представления о патофизиологических механизмах нарушений эмоционального поведения и когнитивных функций при продолжительном действии социальной изоляции как стрессора. Полученные данные могут быть использованы для сравнительного изучения эффектов других типов длительного психоэмоционального стресса.

Модель пролонгированной непрерывной социальной изоляции в случае ее начала у крыс в раннем подростковом возрасте может быть полезной для изучения не только механизмов развития нарушений, но для исследования механизмов адаптации к непреодолимому негативному действию стресса у особей разного пола. В трансляционных исследованиях модель перспективна для поиска новых подходов к фармакологической коррекции таких нарушений.

В экспериментальной практике просматривается возможность использования дополнительной отсроченной оценки сохранения памяти у животных после выработки навыка.

Степень достоверности и обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Представленные в диссертации С.Д. Ширеновой результаты получены в трех сериях исследований, выполненных по общему плану на большой выборке из 190 крыс обоего пола. Поведение и когнитивные функции крыс были изучены с помощью современных, большей частью автоматизированных, методов и рекомендованных протоколов их применения, что повышает надежность полученных данных. С помощью адекватных задач методов иммуноферментного анализа, Вестерн-блоттинга и высокоэффективной жидкостной хроматографии получены данные, которые в совокупности позволяют комплексно оценить патофизиологические изменения у крыс, подвергнутых длительному стрессу социальной изоляции. Статистическая обработка результатов выполнена с учетом характера распределения полученных данных, для решения конкретных задач в каждом эксперименте применяли необходимый тип дисперсионного анализа. Данные представлены в виде графиков и столбчатых диаграмм, ясно демонстрирующих полученные результаты. Предложения автора об использовании в будущих исследованиях некоторых приемов оценки когнитивных функций у крыс экспериментально обоснованы. Достоверность научных положений и выводов высокая.

Полнота публикаций диссертационного исследования

По результатам исследования опубликованы 4 статьи в рецензируемых научных изданиях, включая рекомендованные ВАК Минобрнауки РФ по специальности 3.3.3. Патологическая физиология и приравненные к ним публикации. В трех статьях С.Д. Ширенова является первым автором.

Автореферат полно отражает содержание диссертационной работы, положения, выносимые на защиту, и выводы, оформлен в соответствии с существующими требованиями.

Замечания и вопросы по диссертации

Принципиальных возражений по диссертационному исследованию нет.

В тексте встречаются опечатки и неточности, не снижающие ценность проведенного исследования.

При ознакомлении с экспериментальной частью работы возникли вопросы:

- 1) В клинике для пациентов 'с психическими расстройствами характерны когнитивные нарушения и нарушение исполнительных функций. Что известно в настоящее время об исполнительных функциях у людей, живших в течение длительного времени в условиях социальной изоляции? В работе выявлены значительные когнитивные нарушения у крыс, подвергнутых длительной социальной изоляции. Есть ли экспериментальные данные, позволяющие включить нарушение исполнительных функций в паттерн нарушений, вызванных социальной изоляцией у крыс?

- 2) Можно ли говорить о развитии психозоподобных нарушений у крыс, подвергнутых столь длительной социальной изоляции?

Сделанные замечания не влияют на общую положительную оценку диссертационного исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Ширеновой Софьи Дмитриевны «Когнитивные и эмоционально-мотивационные нарушения у самцов и самок крыс, подвергнутых длительной социальной изоляции: патофизиологические механизмы» является самостоятельной завершённой научно-квалификационной работой, содержащей решение актуальной научной задачи изучения нейрохимических механизмов развития нарушений поведения у крыс обоего пола вследствие длительной социальной изоляции, что имеет существенное значение для патологической физиологии. По актуальности темы, новизне полученных данных и их научно-практической значимости, а также объёму выполненных автором исследований диссертационная работа полностью соответствует требованиям п.п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 в действующей редакции, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология (биологические науки).

Официальный оппонент
доктор медицинских наук,
главный научный сотрудник лаборатории условных рефлексов и физиологии эмоций
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии
Российской академии наук

 Григорьян Григорий Агаларович

Контактные данные: Тел. раб.: +7 (495) 334-70-00; e-mail рабочий: admin@ihna.ru
e-mail: grigorygrigoryan@hotmail.com

Наименование организации: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук
Адрес места работы: 117485, Россия, Москва, ул. Бутлерова, д.5А

Подпись д.м.н. Г.А. Григорьяна заверяю

 Калашникова Елена Феликсовна

«21» ноября 2022г.

