

ОТЗЫВ ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Квичанского Алексея Андреевича
«ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С
НЕЙРОВОСПАЛЕНИЕМ И РЕАКЦИЕЙ НА СТРЕСС, У КРЫС В МОДЕЛИ
НЕОНАТАЛЬНОГО ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.5 – физиология человека и животных

Актуальность темы исследования

Нейроиммуноэндокринное взаимодействие, вклад иммунитета и гормональных факторов в развитие нарушений деятельности нервной системы – актуальнейшая область современной физиологии и медицины. Так, нейровоспаление связывают с протеканием последствий травмы, развитием нейродегенераций и других возрастных патологий мозга, генезом эпилепсии, аутизма, шизофрении, депрессий. В представленном исследовании акцент сделан именно на расстройствах депрессивного спектра, широко распространенных в современных обществах. Как известно, психотерапевтические и фармакологические подходы, позволяющие купировать депрессивные эпизоды и увеличить длительность ремиссий, остаются пока что недостаточно эффективными. Одно из возможных объяснений такой ситуации заключается в неполноте наших представлений о патогенезе депрессии. Нарушения реакции на стресс и активация систем нейровоспаления относятся к относительно «новым» теориям развития депрессивных состояний, дополняющим уже существующие моноаминовую и нейротрофическую теории.

Для изучения патогенеза депрессивных состояний широко используются модели на лабораторных животных. Большинство из них основаны на помещении в неблагоприятные условия: вынужденное плавание, хронический умеренный стресс, социальное поражение, депривация сна и др. При этом чаще всего непосредственно после воздействия наблюдаются депрессивно-подобные реакции с относительно быстрым спонтанным восстановлением нормального поведения. Используемые

модели позволили разработать значительное число разнообразных по механизмам действия препаратов, используемых в настоящее время в клинике. Вместе с тем, эти же модели имеют серьезное ограничение, связанное с попытками трансляции данных о механизмах патогенеза депрессии на современные относительно благополучные общества. Клинический анализ показывает, что значительная часть будущих пациентов по ходу жизни не сталкивается с явными травмирующими воздействиями; у многих из них «неспровоцированная» манифестация симптоматики впервые происходит в пубертате, причем без лечения ремиссия, как правило, не наступает.

В настоящее время создан ряд моделей, в которых у животных в неонатальном периоде программируют склонность к депрессии путем депривации материнского ухода, введения ряда фармакологических агентов, инъекций относительно небольших доз пирогенов. При этом депрессивно-подобное поведение развивается отложено, с наступлением половой зрелости, и подобный методический подход более обоснованно может быть транслирован на современные относительно благополучные общества. Вместе с тем, на нейрофизиологическом, эндокринном, иммунном уровнях патогенез депрессивных состояний у животных в таких ситуациях изучен явно недостаточно. Данную работу диссертант посвятил исследованию влияния неонатального провоспалительного стресса на экспрессию генов, ассоциированных с реакцией на стресс и нейровоспалением; анализ проводился в ЦНС крыс по мере взросления и проявления депрессивно-подобного поведения.

Структура и содержание диссертации

Структура и содержание диссертации А.А. Квичанского соответствуют требованиям ВАК. Диссертация построена по традиционному плану и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, цель и задачи, материалы и методы, результаты, обсуждение полученных результатов, заключение и выводы. Диссертация содержит 50 рисунков, 3 таблицы, изложена грамотным академическим языком на 149 страницах машинописного текста. Во введении

автором обосновывается актуальность проблемы исследования, его новизна и значимость, формулируются положения, выносимые на защиту.

Подробный обзор литературы включает как зарубежные, так и отечественные источники (315 публикаций), даны ссылки на все ключевые работы в рассматриваемой области. Автор тщательно анализирует используемые в настоящее время модели депрессивно-подобных состояний у лабораторных животных (в том числе поведенческие, генетические, основанные на введении гормонов стресса и индукции воспаления; неонатальные модели). Изложены сведения о роли и взаимодействии стресс-реализующих систем и системы нейровоспаления в норме, а также представления об их предполагаемом участии в патогенезе депрессии. Достаточно детально охарактеризованы компоненты гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси (рецепторы глюкокортикоидов и их антагонисты, АКТГ, кортиколиберин и его рецепторы), а также такие молекулы, как провоспалительные ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО α и их рецепторы; противовоспалительный ИЛ-10; достаточно специфический для нервной системы фракталкин и его рецептор, характерный для микроглии (относится к семейству хемокиновых рецепторов). Рубрикация и объем этого раздела диссертации свидетельствуют о высокой компетентности автора в области исследуемой проблематики.

В разделе «Материалы и методы» диссертант последовательно и детально излагает методики каждой из частей диссертационной работы. Описаны способ индукции депрессивно-подобного поведения с помощью неонатального провоспалительного стресса (подкожное введение ЛПС на 3-й и 5-й дни жизни); поведенческие тесты, применявшиеся для оценки эффективности индукции депрессивно-подобного состояния (предпочтение сахарозы и вынужденное плавание); методики забора биоматериала, подготовки проб, биохимического и молекулярно-биологического анализа образцов коры и гиппокампа животных (количественная ПЦР в «реальном времени», ИФА, вестерн-блоттинг). Охарактеризованы также методы статистической обработки.

Полученные данные изложены в разделе «Результаты». Раздел содержит

большое количество иллюстративного материала, его подробность и наглядность облегчают восприятие изложенного материала. Наиболее объемная часть результатов характеризует экспрессию мРНК значительного числа связанных со стрессом и нейровоспалением генов в гиппокампе и фронтальной коре взрослых белых крыс (возраст 3 месяца; изменения обнаружены как у самцов, так и у самок). Кроме того, изучались животные в возрасте 18 дней (эффекты неонатального провоспалительного стресса практически отсутствовали) и в возрасте 30 дней (изменения экспрессии обнаружены почти исключительно у самцов). На поведенческом уровне исследовались только взрослые крысы; значимые признаки депрессивно-подобного поведения выявлены у самцов.

В разделе «Обсуждение полученных результатов» соискатель анализирует итоги своей работы в свете современных представлений о связи депрессии и нейровоспаления, а также с учетом литературных источников. На основе анализа полученной информации и сравнения с исследованиями других авторов Квичанский А.А. предлагает оригинальную гипотезу, характеризующую возможные патогенетические механизмы наблюдавшейся индукции депрессии в модели неонатального провоспалительного стресса. В качестве основных предположений соискатель указывает на изменение функциональной активности фракталкина и его рецептора (как факторов нейрогенеза в гиппокампе, а также показателей взаимодействия нейронов и микроглии), а также на возможные аутоиммунные механизмы постепенно развивающихся нарушений (в этом случае, судя по полученным результатам, особенно значима система ИЛ-6).

В «Заключении» автор подводит основные итоги проведенного им экспериментального исследования. Сформулированные выводы обоснованы полученными первичными данными, полностью соответствуют поставленным задачам, их достоверность не вызывает сомнений.

**Новизна исследования, полученных результатов и выводов,
сформулированных в диссертации**

В диссертационной работе Алексей Андреевич Квичанский получил новые,

интересные и актуальные данные о развитии нарушений систем реакции на стресс и нейровоспаления в ЦНС крыс, подвергнутых неонатальному провоспалительному стрессу. В представленной работе впервые показано существование гендерных различий в эффективности индукции депрессивно-подобного состояния. Впервые для данной модели обнаружено развитие у взрослых самцов признаков нейровоспаления в гиппокампе на фоне проявлений депрессивно-подобного поведения. У самок индукция депрессии на поведенческом уровне не регистрировалась; однако впервые показано, что неонатальный провоспалительный стресс вызывает у особей женского пола изменения функционирования систем реакции на стресс и нейровоспаления во фронтальной коре и гиппокампе.

Также впервые для данной модели обнаружено изменение экспрессии генов, ассоциированных с реакцией на стресс и нейровоспалением, в гиппокампе самцов под действием неонатального провоспалительного стресса в латентном (возраст 30 дней) периоде, т.е. до развития депрессивно-подобного поведения.

Значимость полученных автором результатов для науки и производства

Значимость представленной работы определяется, во-первых, тем, что диссертант выявил изменения экспрессии генов, ассоциированных с реакцией на стресс и нейровоспалением, в ЦНС животных в латентном периоде, после неонатального (3-й и 5-й дни жизни) провоспалительного стресса, но до развития депрессивно-подобного поведения. Полученные данные позволяют по-новому взглянуть на некоторые механизмы нейроиммуноэндокринного взаимодействия в онтогенезе, проливают свет на вклад пренатального стресса в дальнейшее созревание и функционирование нервной системы; полученная информация может быть использована при разработке методик выявления склонности к депрессивным расстройствами (с целью профилактики таких расстройств). Во-вторых, соискатель выявил реакции многих показателей активности эндокринной системы (гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая ось) и иммунной системы (про- и противовоспалительные компоненты) при остром поведенческом и отставленном пренатальном стрессе с учетом гендерной специфики, что также чрезвычайно

интересно и предполагает проведение дальнейших исследований.

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

Обоснованность и достоверность полученных научных положений и выводов обеспечивается продуманным дизайном всего исследования и схем экспериментов, достаточным размером выборок, грамотным статистическим анализом. В своей диссертационной работе Алексей Андреевич Квичанский использовал 111 животных из 15 выводков. При анализе полученных первичных данных использованы современные и адекватные статистические методы.

Соответствие содержания автореферата содержанию диссертации

Содержание автореферата полностью соответствует содержанию диссертации.

Сведения о полноте опубликованных научных результатов

По теме диссертации опубликовано 4 печатных работы, все в рецензируемых журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации и международных журналах, индексируемых в базе Web of Science/Scopus.

Замечания по работе

1. Почему при проведении исследований выводки делили на контрольные и экспериментальные (подопытные), а не проводили случайным образом инъекции ЛПС в каждом выводке? Анализировался ли эффект выводка?
2. Проводили ли тестирование поведения у животных возрастом 18 и 30 суток?
3. Почему набор поведенческих тестов был столь невелик?
4. Почему не анализировались другие отделы мозга крыс (кроме гиппокампа и фронтальной коры)?

Указанные выше замечания не снижают ценности диссертации, не несут принципиального характера и являются уточняющими.

**Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов
диссертационной работы**

Полученные в работе данные по отсроченным последствиям неонатального стресса могут быть использованы научно-исследовательскими институтами для планирования экспериментальных и клинических исследований в соответствующей области. Их важно и полезно внедрить в лекционные курсы ВУЗов и постдипломного образования по биологическим и медицинским специальностям.

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

По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов диссертационная работа Квичанского Алексея Андреевича является самостоятельным законченным исследованием, полностью соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. №335), предъявляемым 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.

Профессор кафедры физиологии
человека и животных биологического
факультета МГУ имени М.В. Ломоносова,
д.б.н.



В.А. Дубынин

12.08, 2022

Заранее беру проф. В.А. Дубынина заверено
Декан биол. ф-та МГУ
Академик АН Киргизии

