

## ОТЗЫВ

члена диссертационного совета д.м.н. проф. Егорова А.Ю. на диссертацию

КАЛУЕВА Алана Валерьевича на тему

«Биологические основы моделирования процессов ЦНС и заболеваний мозга человека с использованием зебраданио (*zebrafish, Danio rerio*)», представленную на соискание учёной степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – Физиология

Диссертация А.В. Калуева представляет собой обобщение многолетних исследований автора, направленных на поиск новых эффективных моделей заболеваний центральной нервной системы на основе нового, многообещающего позвоночного модельного организма - *zebrafish* (зебраданио, *Danio rerio*). Немаловажным достижением данной работы является выявление ранее неизвестных поведенческих паттернов, нейроморфологических особенностей, физиологических (нейрохимических, эндокринных) и геномных биомаркеров широкого спектра заболеваний ЦНС.

Актуальность использования данных новых модельных организмов тесно связана с современными тенденциями научных исследований в области физиологии и нейробиологии. В качестве убедительных аргументов отмечается простота разведения животных в лабораторных условиях, ускоренный онтогенез по сравнению с другими модельными видами, и широкое разнообразие форм поведения. Однако, среди наиболее значимых черт зебраданио в контексте данного исследования следует выделить значительное сходство генома и биохимии (в частности, основной стресс гормон – кортизол и главные нейромедиаторы) с таковыми у человека.

Основной задачей исследования являлось выявление нейробиологических механизмов различных видов стресса и стрессоподобных состояний, а также их взаимосвязь с другими заболеваниями и расстройствами ЦНС (эпилепсией, нейродегенеративными заболеваниями, стереотипиями). Для получения результатов работы диссертантом был использован широкий набор методик, включая многочисленные поведенческие тесты, иммуноферментный анализ, высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ), ПЦР в реальном времени, а также морфологические методы исследования мозга.

Центральная роль в качестве основного поведенческого маркера стресса в работе А.В. Калуева отводится тревоге. Особенно это хорошо прослеживается в главе «Действие основных классов психоактивных препаратов на зебраданио». Также большое внимание уделено связи стресса с когнитивными функциями (память, исследовательское поведение), балансом нейромедиаторов (гиполокомоция, гиперлокомоция, седация),

морфофункциональным состоянием мозга и профилем ключевых генов. При этом, судя по данным научной литературы и на основании текста диссертации, соискателем впервые для зебраданио был разработан метод оценки уровня кортизола, установлен феномен «домашней базы» как одного из ключевых маркеров исследовательского поведения, и впервые в мире на зебраданио протестировано большое количество нейротропных препаратов. Кроме того, некоторые вещества (в частности, галлюциногены) вызвали уникальные специфические поведенческие и биохимические ответы у зебраданио, что было наглядно продемонстрировано в данной работе (например, в описании модели серотонинового синдрома). В диссертационной работе на зебраданио также была разработана новая эффективная методика оценки нейрональной пластичности и морфофункционального состояния конечного отдела мозга путём оценки распределения дендритных шипиков на нейронах теленцефалона рыбы при хроническом стрессе. Данный метод, несомненно, является достаточно перспективным в нейробиологических исследованиях стресса.

В качестве важного плюса к практической значимости представленной диссертации следует отнести и то, что собрано много экспериментальных доказательств об эффективности и эргономичности зебраданио в нейробиологических лабораторных исследованиях, что крайне важно для валидации моделей расстройств ЦНС и расширения инструментария трансляционной биомедицины. Учитывая объём и научную обоснованность полученных данных, зебраданио по праву может занимать лидирующие позиции наряду с млекопитающими в современной фундаментальной нейробиологии и физиологии.

По структуре самой работы при ее анализе нареканий не возникло: главы расположены в логическом порядке, не искажая основную идею исследований. Графические элементы созданы в удобном для восприятия виде. Примечания к графикам и таблицам адекватно отражают содержащийся в них материал. Материал диссертационной работы широко опубликован в международной печати (некоторые статьи процитированы >100 раз) и был представлен на многих научных конференциях и форумах.

В процессе изучения диссертационной работы возникли замечание и вопросы, больше дискуссионного характера:

1. На с. 7, 8 и далее используется выражение «патогенез ЦНС», которое представляется не вполне корректным. Точнее было бы говорить о патогенезе расстройств или заболеваний ЦНС.

2. На с. 41 автор описывает моделирование синдрома отмены алкоголя, морфина, диазепама и кофеина у зебраданио. При этом для его формирования психоактивные вещества вводились относительно короткое время (дни-неделя). Мог ли за это время сформироваться абстинентный синдром? Или может быть это были постинтоксикационные изменения?
3. При экспериментальном моделировании на грызунах учитываются половые различия. Учитывались ли они у зебраданио и если да, то в чем они заключались?

В целом, представленная диссертация открывает новое направление в нейробиологии стресса в моделях на зебраданио, с акцентом на эволюционно древние и консервативные общие механизмы патогенеза ЦНС. В диссертации А.В. Калуева представлены существенные доказательства в поддержку широкого использования *Danio rerio* в качестве трансляционно значимого нового модельного организма в нейробиологических исследованиях по моделированию заболеваний мозга человека. Диссертация Калуева Алана Валерьевича на тему: «Биологические основы моделирования процессов ЦНС и заболеваний мозга человека с использованием зебраданио (*zebrafish, Danio rerio*)» соответствует основным требованиям, установленным Приказом от 01.09.2016 № 6821/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете», а соискатель Калуев Алан Валерьевич достоин присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – Физиология. Пункт 11 указанного Порядка диссертантом не нарушен.

доктор медицинских наук, профессор  
профессор кафедры психиатрии и наркологии Медицинского факультета  
Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Санкт-Петербургский государственный университет;  
Заведующий лабораторией нейрофизиологии и патологии поведения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук



Алексей Юрьевич Егоров

30.09.2020