

## ОТЗЫВ

члена диссертационного совета на диссертацию Демина Константина Андреевича на тему: «Нейробиологические основы стресс-индуцированного аффективного патогенеза у *Danio rerio* и его трансляционная взаимосвязь с аффективным патогенезом крыс и человека», представленную на соискание ученой степени кандидата наук по научной специальности 1.5.24. Нейробиология

Диссертационная работа соискателя Константина Андреевича Демина посвящена исследованию крайне актуальной проблемы современной нейробиологии, трансляционной биомедицины и биологической психиатрии. Широкая распространенность заболеваний ЦНС, в особенности расстройств настроения и тревожных расстройств, а также низкий уровень нашего понимания механизмов развития данных состояний, ставит перед современными учеными непростую задачу по изучению биологических основ формирования данных заболеваний. При этом, ведущим и наиболее исследуемым фактором риска развития аффективной патологии остается именно хроническое стрессовое воздействие на организм, вызывающее развитие выраженных нейроэндокринных, поведенческих и других нарушений.

Традиционно в биомедицине распространено использование грызунов в качестве организмов для моделирования стрессовых состояний человека, однако, в данной работе, Деминым К.А. в качестве основного организма для исследования были выбраны рыбы *Danio rerio*, которые являются менее изученными с практической научной точки зрения организмом. Использование данного вида в биомедицине активно набирает популярность, в том числе в нейробиологических исследованиях и является перспективным направлением, позволяющим по-новому взглянуть на многие физиологические процессы и углубить наше представление о патофизиологии различных состояний человека.

Во введении автор эффективно раскрывает современное состояние исследований различных форм патологии, вызванных стрессом, раскрывает проблематику выбранной темы, приводит четкое обоснование выбора методик и моделей для дальнейшего изучения. Автор также детально описывает основные преимущества использования выбранного модельного организма в исследовании, в том числе его относительно высокую гомологию с человеком в генетическом и физиологическом смысле, хорошо изученные ключевые поведенческие фенотипы и схожие основные нейробиохимические системы. К.А. Демин особенно подчеркивает, что использование *Danio rerio* для исследования эффектов хронического стресса может оказаться высокоэффективным за счет большей эволюционной отдаленности данного организма от человека, то есть, представляя более значимую перспективу, чем модели грызунов.

Основная часть работы разбита на 3 самостоятельных экспериментальных исследования, представленных в отдельных главах, каждое из которых логичным образом проистекает из результатов предыдущей работы, и позволяет автору углубить полученные результаты. Работа безусловно выделяется своей масштабностью, и занимает с приложениями более 200 страниц на родном языке, и имеет почти 500 ссылок на научную литературу, привлеченную в обсуждение.

Первая глава посвящена процессу разработки и подтверждению эффективности теста на определение поведения, которое являлось бы схожим с поведением, проявляющимся у грызунов в тестах на поведенческое «отчаяние». Необходимость разработки данного теста в работе опосредована важностью исследования данного фенотипа для полноценного описания аффективной патологии позвоночных и подтверждения схожести данной патологии с другими изученными видами. Подтверждение наличия фенотипа «отчаяния» у столь отдаленного от человека вида свидетельствует о том, что состояния, схожие с

состоянием депрессии человека, могли возникнуть эволюционно значительно ранее, чем предполагалось. Методологические основы предложенного теста описаны подробно, в том числе сопровождаются видеоматериалом, что позволит в других лабораториях легко воспроизвести представленные эксперименты. При помощи стрессовых воздействий успешно подтверждена физиологическая валидность теста, а при помощи воздействия антидепрессантами и препаратом бензодиазепинового ряда, подтверждена фармакологическая валидность теста. Дополнительно поставлены эксперименты, направленные на изучение потенциала воспроизводимости полученных данных в других лабораториях.

Вторая глава посвящена изучению эффектов хронического воздействия стрессовых факторов на *Danio rerio* и оценке поведенческих, биохимических, и геномных изменений, наблюдаемых в модели. Продолжая тематику первой главы, автор также изучает эффекты модели хронического стресса в предложенном тесте на поведение «отчаяния» исследуемого организма. Изучение показателей в динамике позволяет отследить формирование патологических процессов в модели. Диссертант успешно подтверждает наличие поведенческих и нейробиохимических отклонений, соответствующих аффективной патологии грызунов и человека, подтверждая валидность модели для дальнейших исследований. Этот этап автор завершает исследованием экспрессии генов методом РНК-секвенирования. В итоге было показано, что аффективные патологические проявления *Danio rerio* опосредованы масштабным нарушением экспрессии генов, в том числе генов, связанных с воспалением.

В третьей главе соискателем предпринята попытка сопоставления полученных результатов изменений экспрессии генов *Danio rerio* с показателями других видов позвоночных – крысами и человеком. В качестве материалов для сравнения автор использовал собственные данные экспрессии генов крыс, подвергнутых хроническому стрессу, тогда как данные экспрессии генов человека взяты из открытых источников. Смысл сопоставления заключался, в основном, в применении различных комбинаций вычислительных методик для определения возможных пересечений в экспрессии генов. По результатам проведенной работы К.А. Демин предлагает к дальнейшему изучению несколько генов, которые могут оказаться ключевыми для развития патогенеза сразу у трех видов.

В целом, в представленной работе проведен глубокий анализ патогенеза аффективного расстройства у *Danio rerio* и произведена оценка его взаимосвязи с патогенезом аффективных расстройств у раннее изученных видов – крыс и человека. Подтверждена возможность моделирования «отчаяния» у данного организма, а также изучено изменение данного поведения в модели хронического стресса. Детально описаны показатели поведенческого и биохимического патогенеза в модели хронического стресса *Danio rerio*. Впервые описаны на таком уровне детализации изменения экспрессии генов в данной модели. Крайне важно, и является неоспоримым плюсом данной работы, автором сразу же предпринимается попытка переноса и сравнения, полученных экспериментальных данных, с клиническими, что позволяет (1) оценить потенциал использования полученных данных и (2) наметить дальнейшие темы для исследований, в том числе в области разработки лекарственных средств.

Материал диссертации опубликован в престижных международных рецензируемых журналах Q1-Q2. Статьи, материал которых выносятся на защиту, получили выраженную международную огласку и активно цитируются другими авторами. Результаты работы активно освещались К.А. Деминым на научных конференциях. Работа написана ясным языком, хорошо проиллюстрирована и четко структурирована. Экспериментальные методы, использованные в работе, входят в ряд наиболее современных подходов в

