

ОТЗЫВ

члена диссертационного совета на диссертацию на диссертацию

Немеца Всеволода Владимировича

На тему: «Изучение дофаминергического компонента стресс индуцированных поведенческих адаптаций»,

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.5. Физиология человека и животных.

Актуальность темы диссертационной работы

Актуальность темы диссертации В.В. Немеца обусловлена растущей распространённостью депрессивных и тревожных расстройств, а также аддикций, психосоматических расстройств и посттравматических состояний. Ведущей причиной этих нарушений является хронический психо-социальный стресс. Несмотря на то, что история изучения стресса насчитывает уже более 80 лет, исследования вскрывают все новые нейрохимические, нейрофизиологические и поведенческие механизмы, которыми сопровождается стресс-реакция. В последнее время стало понятно, что стресс не только запускает различные реакции (физиологические, иммунные, поведенческие), направленные на адаптацию организма к стрессорному воздействию, но и приводит к разнообразным патологическим изменениям в состоянии нейрональных систем и структур мозга. Фактически это означает, что главным регулятором и одновременно мишенью стресса является мозг, что влечет за собой различные нарушения психических функций, когнитивных процессов и поведения. Развитие учения о стрессе шло от использования животных моделей и грубых повреждающих воздействий, к психологическому пониманию стресса и использованию таких моделей, как стресс повседневности, субъективно ощущаемый стресс, психологическая травма, психиатрические последствия хронического стресса и т.д. Такое человеческое измерение стресса с одной стороны, привело к тому, что стресс прочно связывают с депрессией, тревогой и аддикциями, но с другой стороны, в силу многообразия и сложности всех вовлеченных реакций и процессов в мозге, к дефициту знаний о тонких нейрохимических и нейрофизиологических механизмах, лежащих в основе этих расстройств. К этому необходимо добавить наблюдаемую неоднородность реакций на стресс, что ставит вопрос об особенностях этих процессов при разных типах стрессорного реагирования.

В диссертации В.В. Немеца сделан важный шаг в направлении того, чтобы глубже понять эти нейрохимические и поведенческие индикаторы стресса при различных типах стресс-реагирования. При этом важно, что эти типы были смоделированы в данной диссертации на животных, т.е. произошел возврат к тем биологическим механизмам стресса, которые можно изучить только в эксперименте, но при новом понимании всего многообразия тех стрессоров, с которыми сталкивается современный человек и с учетом индивидуально-типологических проявлений стресс-реагирования. Животные с активной и пассивной стратегией поведения, различного пола и социального статуса подвергались различным стрессорным воздействиям, в чем-то напоминающими реальные стрессоры у человека, такие как: однократный социальный стресс, хронический стресс повседневности, посттравматический стресс и др. В результате диссертантом были описаны нейрохимические механизмы адаптации животных к таким стрессорам, что весьма актуально ввиду недостаточной эффективности способов коррекции последствий стресса у людей. В этом отношении рецензируемая работа является примером трансляционного подхода, когда физиологические и нейрохимические данные служат конкретным практическим целям.

Основные результаты исследования и их новизна

Основные экспериментальные подходы автора связаны с разделением популяции животных на активно- и пассивно-реагирующих на различные виды стресса. Основным объектом исследования является состояние дофаминовой системы мозга при таком экспериментальном дизайне, а также при различных вариантах отключения важнейших звеньев нейрохимических процессов в мозге – обратного захвата дофамина и биосинтеза серотонина. В отдельной серии экспериментов диссертант представляет данные о селективном действии антидепрессанта бупропиона и о снижении эффективности Д2 антагониста раклоприда через сутки после социального стресса.

В экспериментальных сериях на животных показано, что стресс является триггером алкогольного потребления, вскрываются возможные механизма этого эффекта. На крысах TRH2 КО (животные нокауты по гену TRH2, у которых, более чем на 80% снижена центральная серотонинергическая нейротрансдукция) показано, что серотонинергическая система тесно связана как с алкогольным потреблением, так и с патологической агрессивностью. В работе дается нейрохимическое объяснение данных эффектов, что важно для понимания нейробиологических механизмов стресса и мотивационного поведения. Диссертант подтвердил известные данные оптогенетики с помощью поведенческих методов, кроме того исследовал влияние гена TRH2 на мотивационное и алкогольное поведение у крыс с помощью различных поведенческих и нейрохимических методик. В результате получены надежные данные, демонстрирующие вовлеченность центральной серотонинергической нейротрансдукции в мотивационные процессы, связанные с агрессией и алкогольным потреблением.

Научная новизна заключается в том, что в данной диссертации впервые предложена персонализированная модель влияния стрессоров различного типа и длительности на животных обоего пола, эти данные тщательно проанализированы и обобщены. В диссертации также делается попытка выявить индивидуальные различия у животных по целому ряду показателей (поведение, биохимия, нейрохимия, физиология) как до, так и после стрессорных воздействий. Такой комплексный подход является большим преимуществом данной работы.

Описанные в данной диссертации механизмы стрессорной адаптации проливают свет на роль пластичности дофаминовых рецепторов при стрессе и связь этой пластичности с наблюдаемыми поведенческими, физиологическими и биохимическими изменениями. Новыми и интересными данными является выявленная чувствительность дофаминовой системы как к незначительным однократным стрессорам, так и к стрессам, максимально напоминающим «человеческий» стресс (стресс социального поражения и хронический стресс повседневности). Следует также отметить, что методика вольтамметрии, которая является сравнительно новой в России, позволяет выявить такие различия в функционировании мезолимбической дофаминергической системы и ее рецепторов даже тогда, когда поведенческие различия отсутствуют или не значительны.

В заключительной части работы диссертантом представлен эксперимент по исследованию эмоционального травмирующего воздействия на животных, что приводит к длительным изменениям, которые можно трактовать как посттравматические. Эти данные являются новыми и важными, поскольку модели посттравматического стресса на животных ограничены и практически все имеют те или иные недостатки. Появление новой модели - весьма ценный результат, во-первых, для сравнительных исследований, во-вторых – для понимания механизмов развития посттравматического стресса. Разумеется, новую модель еще предстоит детально изучить в сопоставлении с уже существующими, в то же время, это несомненный шаг вперед.

Теоретическая и практическая значимость полученных результатов

В результате проведенных исследований получены новые данные, расширяющие знания о дофамин-опосредованных механизмах нейрональной адаптации животных к действию различных стрессорных воздействий. Данные исследования, особенно с учетом дифференцированного подхода, вносят значительный вклад в развитие данной области науки. Учет нейробиологических особенностей стрессорных реакций организма, реализуемых в зависимости как от типа данной реакции (активная или пассивная), так и от пола, имеют большой потенциал для разработки новых индивидуализированных подходов к лечению различного типа зависимостей, депрессии, тревожных и посттравматических расстройств.

Показанные в данной диссертации поведенческие и нейрохимические механизмы адаптации к стрессорам различной природы и длительности могут в будущем стать фундаментом для разработки и подбора эффективных доз новых селективных антидепрессантов, разработанных с учетом половых и индивидуальных особенностей стрессорной реакции человека. Исследования нейрохимических основ посттравматического стрессорного расстройства и патологического злоупотребления алкоголем поможет усовершенствовать фармакотерапию данных заболеваний.

Диссертационное исследование В.В. Немеца является значимым и для фундаментальной науки, так как показывает важную роль дофаминергической нейротрансмиссии в формировании поведенческих стратегий, направленных на адаптацию к стрессорным воздействиям. Предложенные диссертантом фундаментальные механизмы стрессорных адаптаций и индивидуализированных стрессорных реакций могут стать основанием для дальнейших исследований с перспективой применения полученных диссертантом закономерностей на человеке, что отражает высокую трансляционную значимость данной диссертации. Персонализированный подход к ряду проблем таких как стресс, алкоголизм и др. позволяет выделить данную диссертацию как значимую в области не только физиологии стресса, но и клинической медицины.

Достоверность научных результатов и выводов

Экспериментальная работа выполнена на высоком методическом уровне. Диссертант использовал как проверенные поведенческие, биохимические, цитологические методы, так и новые в России методики прижизненной регистрации активности мезолимбической дофаминовой нейромедиаторной системы у грызунов, такие как вольтамметрия. В работе приведено подробное описание данного метода и ряд собственных методических разработок и усовершенствований, что делает проведенную работу особенно ценной и открывает возможности для распространения этой техники. Обращает на себя внимание тщательность при реализации такого технически сложного способа анализа дофаминовой системы как вольтамметрия, используемые различные способы верификации, как самого метода, так и точности при достижении необходимых анатомических структур, иммуногистохимических исследований и других методических приемов. Это характеризует автора как очень добросовестного и вдумчивого экспериментатора.

Достоверность научного материала и выводов подтверждается большим объемом исследованного материала, который является результатом 7-ми экспериментальных серий, объединенных общей концепцией и логикой и нацеленных на решение поставленных перед исследователем задач. При этом использованы различные виды (крысы, мыши) и линии экспериментальных животных, как самцы, так и самки, и что особенно важно - нокаутные животные, имеющие вполне определенные нейрохимические уязвимости, что позволяет обоснованно судить о тех процессах и изменениях, которые лежат в основе нарушений поведения в условиях моделирования патологических ситуаций.

Достоверность полученных данных подтверждена статистической обработкой с помощью компьютерных программ. Научная достоверность данных также подтверждена публикациями соискателя в авторитетных российских и зарубежных научных журналах.

Структура и общая характеристика работы

В разделе «Введение» убедительно обосновывается актуальность проведенных исследований, сформулированы его цели и задачи, основные положения, выносимые на защиту, научная новизна достигнутых результатов, их теоретическая и практическая значимость.

Обзор литературы отражает высокий уровень осведомленности автора об истории и нейрохимии стресса, депрессивного и посттравматического расстройства и стратегий поведения при стрессе. Обзор основных представлений о стрессе, от классических, до наиболее современных, фокусируется на нейрохимии стресса и его связи с такими расстройствами, как депрессия, тревога и ПТСР. Особую часть обзора занимает изложение характеристик мотивационного и зависимого поведения, особенностей генетических линий-нокаут по соответствующим генам. В обзоре дано подробное описание метода вольтамметрии, описана история становления метода, даны различные варианты его применения.

В методической главе описаны как традиционные, так и новейшие методики, используемые диссертантом. Дано подробное и высокопрофессиональное описание всех используемых в данном исследовании методик поведенческих приемов, позволяющих судить о депрессивноподобных и иных патологических симптомах у мелких грызунов. Описание свидетельствует о глубоком понимании поведения животных. Также профессионально описаны физиологические, биохимические, генетические и другие методики. В соответствующем разделе описаны способы статистической обработки данных и даны ссылки на необходимые протоколы биоэтической комиссии.

Собственные исследования диссертанта разбиты на соответствующие главы, объединенные одной логикой и тематикой, заявленной в названии диссертации. В первой главе диссертант приводит собственные данные и методические наработки, связанные с новой методикой вольтамметрии *in vivo*, которая далее применяется в последующих экспериментах. Во второй главе диссертант описывает свои данные, связанные с нейрохимическими основами алкогольного и агрессивного поведения. В этой главе автор показывает высокую агрессивность ТРН2 крыс, повышенный уровень у них стресс-зависимого алкогольного потребления, что по данным работы связано с изменением дофаминергической нейротрансмиссии.

В третьей и четвертой главе диссертант исследует дофамин-опосредованные механизмы последствий стресса социального поражения у самцов и самок крыс с различной стратегией поведения. Диссертантом показано, что даже через 24 часа после такого стресса наблюдаются значительные изменения дофаминовой нейротрансмиссии у животных, зарегистрированных с помощью метода вольтамметрии, а также поведенческие отклонения. При этом выявлены половые и групповые особенности такой реакции. В четвертой главе диссертант исследует нейрохимические корреляты стрессорного поведения у животных с различной стратегией поведения при действии хронических и субхронических стрессоров. В данном разделе представлена комплексная характеристика животных с использованием поведенческих биохимических, физиологических и нейрохимических методик как до, так и после стрессорного воздействия. При этом показана высокая подверженность животных с активным типом стрессорной реакции таким стрессорам, также показано селективное действие антидепрессанта бупропиона, влияющего на дофаминовую систему, на животных с активной стратегией поведения. В

пятой главе показано, что бесконтактное эмоциональное воздействие может приводить к длительному посттравматическому стрессу у животных.

Обсуждение полученных результатов диссертантом дано в каждой главе, что вполне обоснованно, учитывая то, что каждая их глав посвящена отдельной проблеме. В конце диссертации дано заключение, в котором обобщены влияния стрессоров (однократный/длительный) на животных с различной стратегией поведения, представлена обобщающая схема различной подверженности животных с активной и пассивной стратегией поведения стрессорным воздействиям различной длительности. Зависимость эффективности поведенческой адаптивной стратегии от длительности и типа стрессорного воздействия выдвигается как итог. Положение о том, что для животных с пассивной стратегией реагирования более характерна высокая чувствительность к острому сильному стрессу, в то время, как для животных с активной стратегией более характерна чувствительность к относительно слабому хроническому стрессу представляется логичным и обоснованным.

Выдвинутые диссертантом основные положения, подлежащие защите, научно обоснованы и подтверждаются экспериментальными исследованиями. Выводы диссертации (общим числом – 11) основаны на полученных результатах и соответствуют поставленным целям и задачам. Личный вклад автора в разработку научной проблемы не вызывает сомнения.

Диссертационная работа изложена на 198 страницах, иллюстрирована 56 рисунками и 8 таблицами, а также дополнительными материалами. Обращает на себя внимание тщательность и иллюстративность рисунков, многие из которых представляют собой готовое методическое руководство. Построение диссертации стандартное и соответствует ГОСТ РФ. Список литературы содержит 389 ссылок (10 отечественных и 379 зарубежных). Диссертация написана хорошим научным языком, читается легко.

Основные положения диссертации достаточно полно отражены в авторитетных научных изданиях. По результатам диссертационной работы было опубликовано 12 работ (в 9-ти из которых диссертант выступал первым автором) в том числе в престижных международных журналах, таких как *Biomolecules*. Данные, представленные в диссертации докладывались на восьми международных конференциях, на двух из которых диссертант занял почетные призовые места.

Возможности использования результатов и выводов диссертационной работы

Показанные в данной диссертации поведенческие и нейрохимические механизмы адаптации к стрессорам различной природы и длительности могут стать фундаментом для разработки и подбора эффективных доз новых селективных антидепрессантов, разработанных с учетом половых и индивидуальных особенностей стресс-реагирования, данные результаты могут иметь высокую трансляционную ценность. В образовательных целях результаты работы могут быть включены в университетские программы по разделам: «Физиология», «Физиология центральной нервной системы», а также в спецкурсах «Биология стресса», «Биология девиантного поведения», «Нейропсихофармакология».

Вопросы и дискуссионные моменты

Принципиальных замечаний и возражений по диссертационной работе нет. В то же время, в ходе прочтения работы возникли некоторые вопросы, а также появились дискуссионные моменты.

1. В современном представлении о хроническом стрессе ведущую роль играет концепция аллостаза, а в качестве маркеров этого состояния рассматриваются ряд метаболических, гормональных, иммунологических и поведенческих изменений. В то же

время, в модели субхронического стресса значимых изменений метаболических показателей не было обнаружено. Можно ли соотнести эту модель с представлениями об аллостазе?

2. Существует длительная дискуссия о различиях в стресс-реагировании и адаптации к стрессу у самцов и самок различных видов. Имеются данные и аргументы как за, так и против того, что самки более устойчивы к хроническому стрессу, чем самцы, в том числе, по когнитивным показателям. Есть ли у автора своя позиция по этому вопросу, исходя из собственных экспериментальных данных?

3. По поводу возможной модели ПТСР – чем обоснована применяемая автором схема интоксикации, дозы, сочетание препаратов и т.д.? Очень скупо описаны симптомы, длительность и выраженность судорог других проявлений интоксикации в то же время, это, наверное, важно. Особенно для характеристики травмирующей экспозиции незатравленных животных. Была ли смертность при том? Были ли среди незатравленных животных и самцы, и самки, и были ли различия между ними по последствиям? Хотелось бы получить более подробную информацию об этой модели, ее обосновании.

4. В порядке дискуссии – известен эффект резкого снижения настроения у человека после приема небольшой дозы алкоголя, который может стать триггером суицидального поведения. Как, с позиций тех знаний, которые накопил диссертант в своей работе, можно объяснить такое явление?

Из замечаний – было бы лучше, если бы все сокращения были размещены в начале диссертации, это облегчило бы работу над текстом.

Все высказанные замечания и вопросы ни в коем случае не снижают ценности работы, а лишь указывают на ее возможное развитие.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С учетом всего вышесказанного считаю, что содержание диссертации **Немеца Всеволода Владимировича** на тему: «Изучение дофаминергического компонента стресс индуцированных поведенческих адаптаций» соответствует специальности 1.5.5. Физиология человека и животных. Диссертация является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи, имеющей значение для дальнейшего развития физиологии стресса, современной фармакологии и биологической психиатрии.

Нарушений пунктов 9, 11 Порядка присуждения Санкт-Петербургским государственным университетом ученой степени кандидата наук, ученой степени доктора наук соискателем ученой степени мною не установлено.

Таким образом, диссертация соответствует критериям, которым должны отвечать диссертации на соискание ученой степени кандидата наук, установленным приказом от 19.11.2021 № 11181/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете», рекомендована к защите в СПбГУ, а ее автор, Немец Всеволод Владимирович заслуживает присуждения ему искомой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.5. Физиология человека и животных.

Член диссертационного совета

Доктор мед. наук, профессор

Профессор каф. медицинской
психологии и психофизиологии СПбГУ



Розанов В.А.