

ОТЗЫВ

на диссертацию Немеца Всеволода Владимировича «Изучение дофаминергического компонента стресс индуцированных поведенческих адаптаций», представленную к защите в диссертационный совет Санкт-Петербургского государственного университета на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. Физиология человека и животных.

Актуальность темы диссертационной работы

Актуальность темы обусловлена распространённостью депрессивных и тревожных расстройств в мире, одной из основных причин которых является стресс. Стресс запускает различные реакции (физиологические, иммунные, поведенческие), направленные на адаптацию организма к стрессорному воздействию. Для эффективного приспособления к различным неблагоприятным условиям среды, служат так называемые адаптивные стратегии поведения. Актуализация определенной (активной или пассивной) стратегии поведения в определенных (постоянных или изменяющихся) условиях среды обеспечивает эффективную адаптацию особи к различным стрессорам и в конечном итоге - выживание. Для эффективного подбора психологических или фармакологических методов борьбы со стрессом необходимо знать нейрохимические и поведенческие индикаторы стресса у людей с различным типом стрессорной реакции. Такие типы стрессорной реакции были смоделированы в данной диссертации на животных. Животные с активной и пассивной стратегией поведения, различного пола и социального статуса подвергались различным стрессорным воздействиям, отражающим реальные стрессоры у человека, такие как: социальный стресс, стресс повседневности, посттравматический стресс и др. В результате диссертантом были предложены возможные нейрохимические механизмы адаптации животных к такому ряду стрессоров, такие механизмы важны и

актуальны ввиду недостаточной проработанности проблемы эффективности методик, направленных на борьбу со стрессом у людей.

Диссертант в своей диссертации 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. Подробное описание данного метода и свои методические наработки диссертант представил в своей работе. В отдельной серии экспериментов диссертант представляет данные о селективном действии антидепрессанта бупропиона, и снижении эффективности D2 антагониста раклоприда через сутки после социального стресса. Все эти данные являются важными и актуальными в свете проблем персонализированной медицины. Так как для эффективного подбора психологических или фармакологических способов борьбы со стрессом и его последствиями необходимо изучение особенностей стрессовой реакции, выявление внутренних механизмов, что было и сделано диссертантом в данной работе.

В диссертации Немеца В.В. так же освещается проблема стресс зависимого алкогольного потребления. Алкогольная зависимость является актуальной проблемой во всем мире. В разделе «введение» диссертант предлагает собственную схему (исходя из литературных данных) действия наркотических веществ на мозговую нейрохимию исходя из длительности воздействия. В своих экспериментальных сериях на животных диссертант достоверно показано, что стресс является триггером алкогольного потребления. На крысах TRH2 KO (животные нокауты по гену TRH2, у которых, более чем на 80% снижена центральная серотонинергическая нейротрансmissão) показано, что серотонинергическая система тесно связана как с алкогольным потреблением, так и с патологической агрессивностью. Диссертантом в своей работе дается нейрохимическое объяснение данных эффектов. Исходя из вышесказанного следует заключить, что диссертант проделал большую работу для понимания нейрохимических основ стресса и

мотивационного поведения. 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.

Научная новизна основные выводы и результатов исследования

Научная новизна данной диссертации заключается в том, что в данной диссертации впервые предложена персонализированная модель влияния стрессоров различного типа и длительности на животных различного пола и типа стрессорной реакции, эти данные тщательно проанализированы, обобщены, представлено заключение. В диссертации так же 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.

Показанные в данной диссертации механизмы стрессорной адаптации являются новыми в свете пластичности дофаминовых рецепторов и связи этой пластичности с наблюдаемыми поведенческими, физиологическими и биохимическими изменениями. Новыми и интересными данными, показанными диссертантом является чувствительность дофаминовой системы как к незначительным однократным стрессорам. Следует добавить, что методика вольтамметрии, которая является сравнительно новой в России позволяет выявить данные такие различия в функционировании мезолимбической дофаминергической системы и ее рецепторов даже тогда, когда поведенческие различия отсутствуют или не значительны.

Эксперименты по стресс зависимому алкогольному потреблению были проведены профессором Будыгиным Е.А. с помощью методов оптогенетики, однако диссертант проверил данные исследования с помощью поведенческих методов, кроме того исследовал влияние гена TRH2 на мотивационное и

алкогольное поведение у крыс, с помощью различных поведенческих и нейрохимических методик. Диссертант получил надежные данные, показывающие вовлеченность центральной серотонинергической нейротрансмиссии в мотивационные процессы, связанные с агрессией и алкогольным потреблением.

В заключении диссертации диссертантом представлен эксперимент по исследованию эмоционального воздействия на животных, приводящим к длительным посттравматическим изменениям в течение месяца после однократного воздействия, эти данные являются новыми и важными, так как модели посттравматического стресса на животных ограничены, следовательно, такие данные ценны для понимания механизмов развития посттравматического стресса.

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. Так как механизмы стрессорной адаптации являются важной и малоизученной областью науки, то данные исследования вносят значительный вклад в становление данной области науки.

Новые индивидуализированные подходы к нейробиологическим особенностям стрессорных реакций организма, реализуемых в зависимости как от типа данной реакции (активная или пассивная), так и от пола. Помогут разработать новый индивидуализированный подход 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 в будущем подобрать эффективную терапию для лечения данных заболеваний. Диссертационное исследование Немеца Всеволода Владимировича по теме «Изучение дофаминергического компонента стресс индуцированных поведенческих адаптаций» является значимым для 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 фундаментом для дальнейших исследований и применений полученных диссертантом закономерностей на человеке, что отражает высокую трансляционную значимость данной диссертации.

Достоверность научных результатов и выводов

Достоверность научного материала и выводов подтверждается большим объемом исследованного материала, проведенного в 7-ми экспериментальных сериях, объединенных общей концепцией и логикой, нацеленной на решения поставленных перед исследователем задач. Достоверность полученных данных подтверждена статистической обработкой с помощью компьютерных программ. Научная достоверность данных подтверждена публикациями соискателя.

Структура и содержание работы

Диссертационная работа изложена на 198 страницах, иллюстрирована 56 рисунками и 8 таблицами + дополнительными материалами. Построение

диссертации стандартное и соответствует ГОСТУ РФ. Список литературы содержит 389 ссылок (10 отечественных и 379 зарубежных). Диссертация написана хорошим научным языком, читается легко.

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 нейрехимии стресса, депрессивного и посттравматического расстройства и стратегий поведения. В соответствующих главах дано подробное описание так же метода вольтамметрии, показана история становления метода, даны различные варианты применения; особую часть «введения» занимает характеристика мотивационного и зависимого поведения, генетических линий-нокаут по соответствующим генам. В разделе «методы исследований» описаны как традиционные, так и новейшие методики, используемые диссертантом, дано подробное описание всех используемых в данном исследовании методик (поведенческие, физиологические, биохимические, генетические и др.), в соответствующей главе 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 диссертанта. Во второй главе диссертант описывает свои данные, связанные с нейрехимическими основами алкогольного и агрессивного поведения. Где показывает высокую агрессивность ТРН2 крыс, так же повышенный уровень

у них стресс-зависимого алкогольного потребления, что по данным диссертанта связано с изменением дофаминергической нейротрансмиссии. В третьей и четвертой главе диссертант исследует дофамин опосредованные механизмы последствий стресса социального поражения на 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, так же поведенческие отклонения, так же диссертант выявил 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 Немцов В.В. проведен комплексный анализ животных как до, так и после стрессорного воздействия, с помощью различных (поведенческих биохимических, физиологических и нейрохимических) методик показана высокая подверженность животных с активным типом стрессорной реакции таким стрессорам, так же 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 соответствующих разделах, писанных выше. 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 к стрессорным воздействиям различной длительности. Диссертантом сформулированы выводы представлены в соответствующем разделе, намечены возможные направления научного поиска.

Выдвинутые диссертантом научные положения научно обоснованы и подтверждаются экспериментальными исследованиями. Выводы диссертации

основаны на полученных результатах и соответствуют поставленным целям и задачам. Личный вклад автора в разработку научной проблемы не вызывает сомнения.

Основные положения диссертации достаточно полно отражены в 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 и получил премию за лучший абстракт и постер.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

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, данные результаты могут иметь высокую трансляционную ценность.

В образовательных целях данные результаты могут быть включены в образовательные программы по разделам: «Физиология», «Физиология центральной нервной системы».

Принципиальных замечаний и возражений по диссертационной работе не имею. К тому же, автору удалось изложить материал также увлекательно, как это удавалось только Robert Sapolsky и Д.А.Жукову. Но, тем не менее, считаю для себя уместным подискутировать по материалам, касающихся поведенческих эффектов отравления фосфоорганическими соединениями. Всеволод Владимирович их интерпретирует как проявление ПТСР. К сожалению, не могу с этим согласиться, поскольку такая трактовка просто

размывает терминологию. ПТСР всё таки тесно связан с действием психо-эмоционального стрессора. Тут будет полезно вспомнить о представлениях J. Blalock (1984) об афферентных звеньях стресса. В этой концепции чётко проведена демаркационная линия между когнитивными и не когнитивными стрессорами. Когнитивными стрессорами считаются, те кто первично воспринимаются рецепторами органами чувств. Соответственно не когнитивные стрессоры первично распознаются на уровне иммуно-химической функциональной системы гомеостаза по И.Е.Ковалёву. По моему мнению, когда говорится о ПТСР, то в первую очередь предполагается, что триггерами являются когнитивные стрессоры. При отравлении фосфорорганическими соединениями первичными триггерами являются не когнитивные стрессы. Кроме того, любая модель ПТСР подразумевает сосуществование помимо фенотипа животных с ПТСР дополнительного фенотипа устойчивых к ПТСР. Мне не удалось его распознать в представленном материале. Высказанное возражение несколько не умаляет высокую научную ценность всех полученных автором результатов, в том числе и дискуссионных.

При изучении материалов диссертации возник два вопроса, на которые хотел бы получить от автора ответ:

1. Поясните пожалуйста как происходит метаболизм фосфоорганических соединений в печени?
2. Известно, что помимо поведенческих стратегий адаптации ещё существуют и метаболические, которые В.И.Кулинский и И.А.Ольховский (1992) обозначают как резистентная и толерантная. Как же между собой соотносятся поведенческие и метаболические стратегии?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Немеца Всеволода Владимировича «Изучение дофаминергического компонента стресс индуцированных поведенческих

адаптаций», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук соответствует паспорту научной специальности 1.5.5. Физиология человека и животных имеет значительное научно-практическое значения для физиологии стресса, фармакологии и медицинской психиатрии. Диссертация Немеца В.В., выполненная под научным руководством к.м.н. Гайнетдинова Рауля Радиковича и к.б.н. Будыгина Евгения Александровича, полностью соответствует требованиям п. 9 «Положение о порядке присуждения ученых степеней» утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 с изм. от 28.08.2017 г. № 1024, предъявляемым к диссертации на соискание ученой степени кандидата наук а ее автор, Немец Всеволод Владимирович заслуживает присуждения ему искомой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.5. Физиология человека и животных.

Профессор кафедры общей
и клинической патологии,
факультета фундаментальной
медицины ФБГОУ ВО «Челябинский
государственный
университет»

В.Э. Цейликман

