

ОТЗЫВ

официального оппонента
д.б.н., в.н.с. ИЭФБ РАН Романовой Ирины Владимировны
на диссертационную работу Лопатиной Ольги Леонидовны на тему
«Окситоцин-опосредованные механизмы регуляции социального поведения и развития
тревожных состояний», представленную на соискание ученой степени доктора
биологических наук по специальности
03.03.01 – физиология.

Актуальность проведенного исследования. Исследование интегративных механизмов, взаимодействие которых обеспечивает реализацию когнитивных процессов, психической деятельности человека и его существование в социальной жизни является важнейшей задачей нейрофизиологии. В связи с увеличением количества психических расстройств, которые приводят к асоциальному поведению, эти исследования стали особенно актуальными. Это прежде всего связано с исследованием нейрохимических субстратов, которые лежат в основе обеспечения различных форм поведения и поиском маркеров различных психических нарушений, а также мишеней для их фармакологической коррекции. В этой связи актуальность исследования, представленного в диссертации О.Л. Лопатиной «Окситоцин-опосредованные механизмы регуляции социального поведения и развития тревожных состояний» не вызывает сомнения, а его результаты чрезвычайно важны для физиологии и медицины.

Научная новизна исследования, теоретическая и практическая значимость полученных результатов, сформулированных в диссертации.

Автором диссертации вынесены на защиту следующие основные положения:

1) Каналы TRPM2 (меластатин-связанный канал транзиторного рецепторного потенциала-2) и пАДФ-рибоза опосредуют температурно-зависимое высвобождение кальция и участвуют в окситоцин-индуцируемой активации окситоциновых рецепторов. 2) Каналы TRPM2 могут быть рассмотрены как новые молекулы-мишени при заболеваниях, ассоциированных с нарушением социального поведения и aberrантной чувствительностью к стрессовым факторам. 3) CD157 выступает как мультисистемный регулятор, и кодирующий его ген является геном-кандидатом и риск-фактором развития состояний беспокойства и тревожности, нарушенной чувствительности к стресс-факторам. 4) CD157 и CD38 участвуют в процессах развития головного мозга, нейропластичности за счет регуляции центральной секреции окситоцина, а также в процессах нейровоспаления при нейродегенерации. 5) Экзогенный окситоцин инициирует процессы нейропластичности через каскады активации рецепторов окситоцина с последующей положительной обратной

связью в реализуемом социальном поведении и может выступать модулятором нейро-социальной когниции.

Данные положения были сформулированы на основании анализа и обобщения огромного количества принципиально новых фактов, полученных автором диссертации.

Диссертационная работа О.Л. Лопатиной построена по традиционному плану, состоит из введения, 4-х глав (обзор литературы, объекты и методы, результаты исследования, обсуждение результатов), заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 423 источника. Работа изложена на 277 страницах текста и иллюстрирована 5 таблицами, 81 рисунком, часть иллюстративных материалов вынесена в приложение.

В обзоре литературы сформулирована основная задача исследования и приводятся известные данные о нейрохимической природе исследуемых молекул-мишеней. Автор приводит данные о структуре окситоцина и нейронах паравентрикулярного и супраоптического ядер гипоталамуса, где осуществляется продукция окситоцина. При этом основное внимание обращено на классическую гипоталамо-гипофизарную ось, через которую осуществляется выведение окситоцина в общий кровоток. Приводятся данные о корреляции уровня окситоцина и различных психических расстройств с сопутствующим социальным дефицитом. При этом, на мой взгляд, совершенно справедливо ставится вопрос: насколько тесно периферический (по-видимому, выведенный из ЦНС в кровоток) окситоцин связан с функцией нейропептидов ЦНС, которая непосредственно отвечает за эффекты поведения и психопатологию? При этом скупое, на мой взгляд, обсуждается вопрос об экстрагипоталамических путях выведения окситоцина (за исключением миндалевидного комплекса), где выявлены рецепторы к окситоцину в мозге, через которые окситоцин вовлечен в регуляцию поведенческих эффектов и существуют ли не гипоталамические источники этого пептида. В связи с этим возникают вопросы:

- что является источником внеклеточного окситоцина (Рис. 8 на стр. 42)?
- каким образом выведенный в кровоток окситоцин оказывает прямое влияние на социальное поведение, социальный опыт, социальную память?
- осуществляется ли экспрессия окситоцина кроме гипоталамических ядер в других структурах мозга и в периферических тканях?

Автор рассматривает различные известные пути регуляции экспрессии окситоцина и обосновывает изучение роли CD38-, цАДФ-рибоза-, CD157-, TRPM2-опосредованной сигнализации окситоцина и процессов нейродегенерации в головном мозге с возможностью ее модуляции через активацию процессов ауторегуляции окситоцина.

В Главе 2 «Объекты и методы исследования», которая изложена на 31 страницах текста, приводится графическое изображение дизайна экспериментов *in vivo* и *in vitro*, приводится описание экспериментальных животных (покаут и нокдаун), экспериментальные модели (болезни Паркинсона и Альцгеймера), культур клеток, использование фармакологических препаратов, использование лентивирусных конструкций. Автор перечисляет и описывает методику проведения использованных поведенческих тестов и обосновывает их применение для животных разных взрослых групп. В разделе описан спектр биохимических, гистологических, иммуногистохимических и молекулярно-биологических методик, электрофизиологическая регистрация. В работе был использован большой спектр иммуногистохимических маркеров, выбор которых автор аргументирует.

Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью различных критериев, обоснованность выбора которых и качество проведения статистического анализа не вызывает сомнения.

Глава 3 «Результаты исследования» структурирована по экспериментальным процедурам. Автор приводит результаты исследования эмоционального и поведенческого, а также биохимического статуса экспериментальных животных, в частности мышей *Cd157^{-/-}*. Результаты хорошо иллюстрированы, в подписях к рисункам дается подробное описание использованного метода. Так как обсуждение результатов выведено в отдельную главу, то результат был бы более нагляден, если бы описание эксперимента заканчивалось бы небольшим обобщением результата, что и стоило бы развивать в обсуждении.

В Разделе 3.1.7 (стр. 107) приводятся результаты, свидетельствующие о возможности коррекция пониженного уровня социализации с помощью экзогенного окситоцина, а в Разделе 3.6.4 (стр. 138) - о фармакологической коррекция экзогенным окситоцином дефицита ультразвуковой вокализации. В связи с этим опять возникает вопрос:

- какие механизмы, по мнению диссертанта, задействованы в эффекте внутривнутрибрюшинных инъекций экзогенного окситоцина на социальное поведение?

В диссертации представлены очень интересные данные о роли CD38 и CD157 в процессах нейrogenеза и синаптогенеза, которые получены с использованием различных иммуногистохимических маркеров и продемонстрированы в различных экспериментальных моделях. Автор убедительно показывает возможность экспрессии CD38 и CD157 не только нейрональными клетками и их предшественниками, но и клетками астроцитарной глии и микроглии.

В целом текст диссертации хорошо читать, однако встречаются некоторые неточности:

- не понятно, что такое диаметр флуоресценции (стр. 74);
- на стр. 84 “снижение тирозин-гидроксилаза-положительных клеток в черном веществе и стриатуме...”, однако в стриатуме располагаются отростки этих клеток;
- на стр. 109 область, прилежащая к ядру (по-видимому, имелось в виду область прилежащего ядра);
- подпись на Рисунке 73 (стр. 188): Колокализация окситоцина (ОХТ), CD38 или TRPM2 в паравентрикулярном ядре (PVN); но на этом рисунке CD38 нет.
- Приложение Е (стр. 270): не понятно, почему после введения нейротоксина МПТП мышам экспрессия альфа-синуклеина в среднем мозге наблюдается не в дофаминергических нейронах компактной части черной субстанции, а в ретикулярной, где, преимущественно расположены ГАМКергические нейроны?
- опечатка на стр. 270 хвостатого пуламена, что имелось в виду?
- на стр.272 ядре прилежащего ядра (AcбС) головного мозга, по-видимому, автор имел в виду core область прилежащего ядра;

Следует отметить, что высказанные по данной работе замечания не являются принципиальными, вопросы имеют дискуссионный характер и не умоляют значимости работы.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, личный вклад автора

Научные положения диссертации обоснованы большим количеством и разнообразием экспериментальных моделей и современных методов исследования, выполненных на высоком методическом уровне. Положения и выводы диссертационной работы сформулированы на основе полученных автором результатов и полностью отвечают поставленным задачам, а исследование соответствует паспорту специальности. Эта работа представляет определенную методическую ценность, так как в ней проводится анализ экспериментальных моделей, воспроизводящих социально значимые заболевания (болезнь Альцгеймера, аутизм).

Текст автореферата изложен в хорошем стиле, свидетельствует о высокой квалификации автора и соответствует содержанию диссертационной работы. Существенных замечаний к содержанию автореферата не выявлено. Автореферат полностью соответствует диссертации. Основные результаты диссертации представлены в 21 статье в журналах из перечня ВАК, из которых 19 опубликованных в высокорейтинговых международных изданиях, индексируемых в базах Web of Science и Scopus. Диссертант является соавтором коллективной монографии на русском языке, а

также и соавтором в двух главах монографий в англоязычных изданиях. Результаты исследования представлены на многих всероссийских и международных конференциях.

Заключение. Диссертационная работа Лопатиной Ольги Леонидовны «Окситоцин-опосредованные механизмы регуляции социального поведения и развития тревожных состояний» является законченным научным исследованием, развивающим новое научное направление в области нейробиологии и психонейроэндокринологии, включающим выявленные новые принципиальные факты регуляции социального поведения и его коррекции.

Диссертационная работа Лопатиной Ольги Леонидовны «Окситоцин-опосредованные механизмы регуляции социального поведения и развития тревожных состояний» соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением правительства РФ от 24 сентября 2013 г. за №842 (с изменениями в редакции постановлений Правительства РФ №335 от 21.04.2016, №748 от 02.08.2016), а ее автор **БЕЗУСЛОВНО** заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Согласна на включение моих персональных данных в аттестационное дело, размещение в Интернете и их дальнейшую обработку.

Ведущий научный сотрудник
лаборатории сравнительной сомнологии
и нейроэндокринологии
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института эволюционной
физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова
русской академии наук,
194223, Санкт-Петербург, пр-т Мориса Тореза, 44.
доктор биологических наук
Романова Ирина Владимировна
телефон: (812)5523227
irinaromanova@mail.ru

Подпись д.б.н. Романовой И.В. заверяю

Начальник отдела кадров ИЭФБ РАН
телефон: (812)552-79-80
omilvbs@gmail.com

Орлов Михаил Борисович

