

ОТЗЫВ

официального оппонента
к.б.н. Абдурасуловой Ирины Николаевны
на диссертацию Шалагиновой Ирины Геннадьевны
«Молекулярно-клеточные механизмы развития нейровоспаления при
постстрессорных нарушениях поведения у линий крыс с контрастной
возбудимостью нервной системы»,
представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по
специальности 1.5.5 — Физиология человека и животных

Актуальность темы диссертационной работы

Усложнение в последнее время социально-экономической, эпидемиологической, военно-политической обстановки в мире существенно увеличило стрессорную нагрузку на общество, что актуализировало исследования, направленные на выяснение последствий стрессорных воздействий. Диссертационное исследование Шалагиновой И.Г. направлено на выяснение механизмов развития постстрессовых расстройств с акцентом на изучение роли нейровоспаления и микробиоты кишечника. Несмотря на большое количество экспериментальных работ в этом направлении, по-прежнему не выясненными остаются вопросы о том, каким образом стресс приводит к нарушениям функций центральной нервной системы. Ось «микробиота-кишечник-мозг» является одним из наиболее актуальных направлений исследований в современной нейронауке, поскольку известно, что микроорганизмы способны выделять метаболиты, которые могут существенно влиять на функциональное состояние нервной ткани, в том числе, через эпигенетическую регуляцию транскрипции генов, связанных с воспалением. Актуальность данной работе также придает уникальный объект исследования – крысы линий с контрастной возбудимостью нервной системы, селектированные по порогу возбудимости, что позволяет оценивать генетически детерминированные факторы риска развития постстрессовых расстройств.

Степень обоснованности основных научных положений и выводов

Цель диссертационной работы – изучить ряд признаков нейровоспаления и состав микробиоты кишечника, их возможную роль в процессах адаптации /дезадаптации к длительному эмоционально-болевого стрессу в связи с наследственно обусловленным высоким и низким уровнем возбудимости нервной системы у крыс.

Использованный автором дизайн исследования позволяет решить все поставленные задачи на современном методическом уровне. Для оценки выраженности нейровоспаления использованы методы ПЦР, оценка индекса соотношения нейтрофилов\лимфоцитов в крови, иммуногистохимическое окрашивание и флуоресцентная микроскопия для определения количества микроглиальных клеток. Для оценки представленности микроорганизмов в стуле животных было проведено секвенирование гена 16S рРНК. Поведение животных оценивалось стандартными методиками.

Выбранные методы адекватны поставленным в работе цели и задачам.

Статистическая обработка проведена корректно, что делает полученные выводы обоснованными. Положения, выносимые на защиту, сформулированы ясно и обоснованы полученными результатами исследования.

Новизна полученных результатов и выводов

Новизна данной работы заключается как в оценке не только краткосрочных, но и долгосрочных (2 месяца) эффектов стресса на выраженность нейровоспаления и состав микробиоты ЖКТ. Кроме того, впервые выявлена специфическая динамика протекания постстрессорного нейровоспаления у крыс с разной возбудимостью нервной системы.

Теоретическая и практическая значимость полученных результатов, сформулированных в диссертации

Данная работа предоставляет результаты, уточняющие как роль индивидуальных генетических различий в адаптации к стрессу, так и механизмы постстрессорных нарушений, эти вопросы можно отнести к важнейшим фундаментальным проблемам нейробиологии. Результаты исследования свидетельствуют о том, что генетически детерминированный уровень возбудимости нервной системы может являться фактором риска развития постстрессорных поведенческих нарушений. Знание о том, какие генетически детерминированные особенности нервной системы могут увеличивать риск развития выраженного постстрессорного нейровоспаления позволит приблизиться к внедрению персонализированного подхода к лечению и профилактике постстрессорных расстройств.

Кроме того, знания о специфике постстрессорных изменений в представленности микроорганизмов в кишечнике у животных с низким и высоким уровнем возбудимости, будут способствовать поиску новых методов лечения постстрессорных нарушений путем коррекции микробиоты кишечника с учетом индивидуально-типологических особенностей нервной системы.

Апробация работы и публикации

Основные результаты диссертации представлены на шести высокорейтинговых российских и международных конференциях. По материалам работы опубликовано 6 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ / в изданиях входящих в базы Scopus и Web of Science.

Структура и содержание работы

Диссертация построена по традиционной схеме и содержит разделы «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Список сокращений», «Список литературы». Работа изложена на 143 листах, проиллюстрирована 35-ью рисунками. Список литературы содержит 209 источников, в том числе 12 ссылок на отечественные и 197 ссылок на зарубежные публикации.

Во введении обосновывается актуальность темы исследования, сформулированы цель, задачи и положения, выносимые на защиту, описана

новизна, практическая и теоретическая значимость полученных результатов, представлена информация об их апробации.

В главе 1 (Обзор литературы) автор анализирует современные данные о механизмах нейроиммунных взаимодействий, роли нейровоспаления в патогенезе постстрессорных расстройств, функциональном значении провоспалительных сигнальных молекул, вырабатываемых как клетками крови, так и глиальными клетками; приводит обзор современных представлений о роли микробиоты кишечника как возможного регулятора нейровоспаления.

В Главе 2 подробно изложены Материалы и методы исследования: линии крыс с высоким и низким порогом возбудимости нервной системы, использованная модель стресса. Описание поведенческих тестов, методики оценки соотношения нейтрофилов/лимфоцитов в мазках крови, иммуногистохимических и молекулярно-биологических методов исследования выполнено на уровне, необходимом для воспроизведения эксперимента.

В Главе 3 представлены результаты исследования.

В данной главе изложены результаты оценки межлинейных различий в уровне возбудимости нервной системы исследуемых линий крыс, влияние длительного эмоционально-болевого стрессирования на поведение крыс с контрастной возбудимостью нервной системы в стандартных тестах «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт» на разных сроках после стресса, анализ выраженности воспаления у крыс двух линий через 1, 7, 24 и 60 суток после длительного эмоционально-болевого воздействия. Так же представлены данные о показателях разнообразия и представленности микроорганизмов в стуле крыс с контрастной возбудимостью нервной системы в норме и в разные сроки после длительного эмоционально-болевого стрессирования. Результаты исследований статистически обработаны, проиллюстрированы рисунками и диаграммами.

В этой же главе автор проанализировал полученные результаты и сопоставил их с литературными данными.

В разделе «Заключение» обобщаются полученные сведения и ставятся новые вопросы, требующие экспериментальной проверки.

Соответствие содержания диссертации автореферату и указанной специальности

Автореферат отражает основное содержание диссертации, оформлен в соответствии с требованиями ВАК РФ, и соответствует специальности 1.5.5 - Физиология человека и животных.

Тем не менее, к диссертанту имеет несколько вопросов:

1. Представленные на рис. 28 данные отражают выявленные автором межлинейные различия представленности нескольких бактериальных родов, но эти данные отличаются от экспериментальных крыс до стресса, можно ли в таком случае считать выявленные межлинейные различия закономерными?
2. Из представленного дизайна рисунков 32 и 33 складывается впечатление, что автор определил в составе фекального микробиома только 9 бактериальных родов. Что представлено по X на рисунках 32 и 33 и в каких единицах?

3. Означает ли, что представленные на рисунках 32 и 33 – относительные изменения представленных бактериальных родов статистически не значимы, в отличие от представленных данных на рисунках 30 и 31 (как следует из подписей)?
4. С чем автор связывает наличие сдвига в лейкоцитарной формуле без изменения экспрессии генов провоспалительных цитокинов.

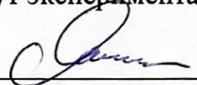
Имеются замечания по оформлению диссертационной работы: в тексте встречаются опечатки, в списке литературы отсутствует ссылка №9.

Однако возникшие вопросы имеют дискуссионный характер, а высказанные замечания не влияют на суть и ценность представленной диссертационной работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

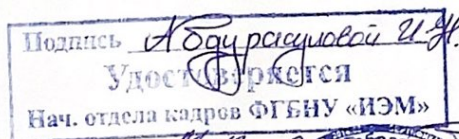
Диссертационная работа Шалагиновой Ирины Геннадьевны на тему «Молекулярно-клеточные механизмы развития нейровоспаления при постстрессорных нарушениях поведения у линий крыс с контрастной возбудимостью нервной системы» является законченной самостоятельно выполненной научно-квалификационной исследовательской работой. Актуальность, научная новизна и методический уровень работы позволяют заключить, что диссертационная работа Шалагиновой И.Г. полностью соответствует п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013 № 842 (с изменениями от 11.09.2021 г., №1539), утвержденного Постановлением Правительства РФ, а ее автор, И.Г. Шалагинова, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5—физиология человека и животных.

кандидат биологических наук,
заведующая Физиологическим отделом им. И.П. Павлова,
заведующая лабораторией нейробиологии
интегративных функций мозга
Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
«Институт экспериментальной медицины»

 Абдурасулова Ирина Николаевна

«27» сентября 2023 г.

тел: +7(951) 659-24-97
i_abdurasulova@mail.ru



подпись к.б.н. Абдурасуловой И.Н. заверяю:

