

УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки

«Институт высшей нервной деятельности и
нейрофизиологии РАН»

доктор биологических наук, профессор РАН
Алексей Юрьевич Малышев



«18» «сентября» 2023 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию Ирины Геннадьевны Шалагиновой
«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

Диссертационное исследование И.Г. Шалагиновой посвящено актуальной проблеме изучения механизмов постстрессорных поведенческих нарушений. В последние годы нейровоспаление рассматривается как один из механизмов, посредством которого стрессорная реакция меняет молекулярную, эпигенетическую и, в конечном итоге, клеточную пластичность, таким образом, что нарушается функция нервной ткани и, как следствие, поведение. В качестве возможного регулятора процессов нейровоспаления рассматривают ось «микробиота-кишечник-мозг», поскольку известно, что микроорганизмы могут через выделяемые ими

метаболиты влиять на работу клеток нервной ткани, в том числе, на транскрипцию генов, связанных с воспалением через эпигенетические механизмы. Работа выполнена на линиях крыс с контрастной возбудимостью нервной системы, что в перспективе позволит выявить генетические факторы риска развития симптомов психопатологий при действии стресса, связанные с основным свойством нервной системы. Поскольку рост распространенности психических расстройств, таких как депрессия, посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР), патологическая тревога, происходит во всем мире, понимание их патогенеза необходимо для разработки подходов к патогенетически обоснованному предупреждению и лечению этих заболеваний. Актуальность исследования И.Г. Шалагиновой не вызывает сомнений.

Степень обоснованности основных научных положений и выводов

Целью исследования диссертанта было изучить ряд показателей нейровоспаления и состав микробиоты кишечника, исследовать их возможную роль в процессах адаптации /дезадаптации к длительному эмоционально-болевого стрессу и обнаружить ассоциации с наследственно обусловленным высоким и низким уровнем возбудимости нервной системы у крыс. У крыс линий с высокой и низкой возбудимостью нервной системы проведена оценка краткосрочных и долгосрочных эффектов длительного эмоционально-болевого стрессорного воздействия на выраженность тревожноподобного поведения, выраженность признаков нейровоспаления в мозге, долгосрочной динамики постстрессорной воспалительной реакции в крови и краткосрочных и долгосрочных изменений мРНК гена *bdnf* в мозге, а также анализ разнообразия микробиоты кишечника и динамики постстрессорных изменений представленности микроорганизмов.

Для решения поставленных задач автор разработал адекватный задаче и целям дизайн исследования, использовал современные методы, позволяющие провести количественную оценку микроглиальных клеток в гиппокампе и префронтальной коре экспериментальных животных, уровень экспрессии генов провоспалительных цитокинов и нейротрофического фактора *bdnf*, представленность микроорганизмов в желудочно-кишечном тракте экспериментальных животных, а также

поведенческие симптомы стресса.

Для анализа результатов исследования применен корректный набор методов статистического анализа. Цели и задачи работы поставлены корректно, выбор методов исследования соответствует поставленным задачам.

На защиту вынесено 3 положения. Первое утверждает, что генетически детерминированные особенности крыс с высоким и низким уровнем возбудимости нервной системы определяют специфику долгосрочных тревожно-подобных нарушений поведения в ответ на длительное эмоционально-болевое стрессорное воздействие. Второе говорит о том, что генетически детерминированные особенности крыс с высоким уровнем возбудимости нервной системы повышают риск развития постстрессорных воспалительных реакций. Третье положение утверждает, что у низковозбудимых крыс по сравнению с высоковозбудимыми большее разнообразие микробиоты и более специфические ее изменения под влиянием длительного эмоционально-болевого стресса.

Представленные 5 конкретных выводов, которые, как и положения, четко сформулированы и аргументированы изложенными в работе результатами исследования.

Новизна полученных результатов и выводов

Новизна результатов и выводов сомнения не вызывает. В данной диссертационной работе впервые выявлена специфическая динамика протекания постстрессорного нейровоспаления у крыс с разной возбудимостью нервной системы. Кроме того, впервые получены данные о разнообразии и составе микробиоты кишечника у крыс с разной возбудимостью нервной системы, а также изменения в микробиоте происходящие у животных двух линий в ответ на хроническое стрессорное воздействие.

Значимость для науки и практики

Значимость полученных результатов для физиологии и смежных наук определяется тем, что полученные в работе данные существенно углубляют понимание функционирования недавно постулированной регуляторной физиологической оси «микробиота-кишечник-мозг». В работе показаны ассоциации

поведения, экспрессии микроглии и провоспалительных цитокинов в мозге и состояния микробиоты в ситуациях контрастных особенностей возбудимости нервной системы у животных. Потенциально эти данные важны для фундаментальной медицины и могут в будущем быть транслированы в клинику стресс-зависимых заболеваний, в первую очередь психопатологий. Полученные результаты могут быть использованы и в образовательных целях, в курсах лекций, касающихся механизмов поведения, механизмов влияния стресса на мозг, оси «микробиота-кишечник-мозг», механизмов развития патологий пластичности мозга, в т.ч. роли нейровоспаления и регуляторной функции кишечной микробиоты.

Апробация работы и публикации

Основные результаты диссертации были представлены на 6 российских и международных конференциях. По материалам работы опубликовано 6 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ, и 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». Диссертация выполнена на 143 листах, список литературы содержит 210 источников.

В главе 1 (Обзор литературы) обсуждаются современные данные о механизмах нейроиммунных взаимодействий, роль нейровоспаления в патогенезе постстрессорных расстройств, а также микробиота кишечника как возможный регулятор процессов нейровоспаления. Это добротный обзор, на базе которого можно адекватно интерпретировать полученные результаты.

В главе 2 подробно и воспроизводимо описаны Материалы и методы исследования: линии крыс с высоким и низким порогом возбудимости нервной системы, модель стресса, поведенческие тесты, методика оценки соотношения

нейтрофилов/лимфоцитов в мазках крови, иммуногистохимические и молекулярно-биологические методы исследования.

В главе 3 представлены результаты исследования. Глава включает описание результатов по оценке межлинейных различий в уровне возбудимости нервной системы исследуемых линий крыс, влияние длительного эмоционально-болевого стрессирования на поведение крыс с контрастной возбудимостью нервной системы в тестах «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт», анализ выраженности воспаления у крыс двух линий через 1, 7, 24 и 60 суток после длительного эмоционально-болевого воздействия. Также 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. Полученные результаты иллюстрированы качественными рисунками и схемами Автор проанализировал полученные результаты и сопоставил их с литературными данными в Главе 3 и в разделе Заключение. Обсуждение результатов качественное, показывает связи полученных данных с данными литературы и их место в общей развивающейся в мире концепции о механизмах развития стресс-зависимого нейровоспаления его ассоциации со специфическими особенностями нервной системы и состоянием микробиоты.

В целом полученные в работе данные на молекулярно-клеточном и поведенческом уровнях являются существенным вкладом в наше понимание работы регуляторной физиологической оси «микробиота-кишечник-мозг».

Соответствие содержания диссертации автореферату и указанной специальности

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

Вопросы и замечания

1. При изложении полученных данных и представлении результатов

статистического анализа было бы полезно для каждого метода рассчитать (лучше предварительно, но можно и по полученным в работе данным) мощность (power), что позволило бы верифицировать выявленную значимость различий и подкрепить сделанные выводы.

2. Было бы также полезно число животных указывать в подписи под каждым рисунком (в работе - под частью рисунков), а также в случае сильных различий в числе образцов (напр. Рисунок 4. Влияние длительного эмоционально-болевого стрессирования на количество микроглиальных клеток в гиппокампе у крыс линий ВП и НП. $n=5-12$ в группе) указывать значение n для каждой группы.

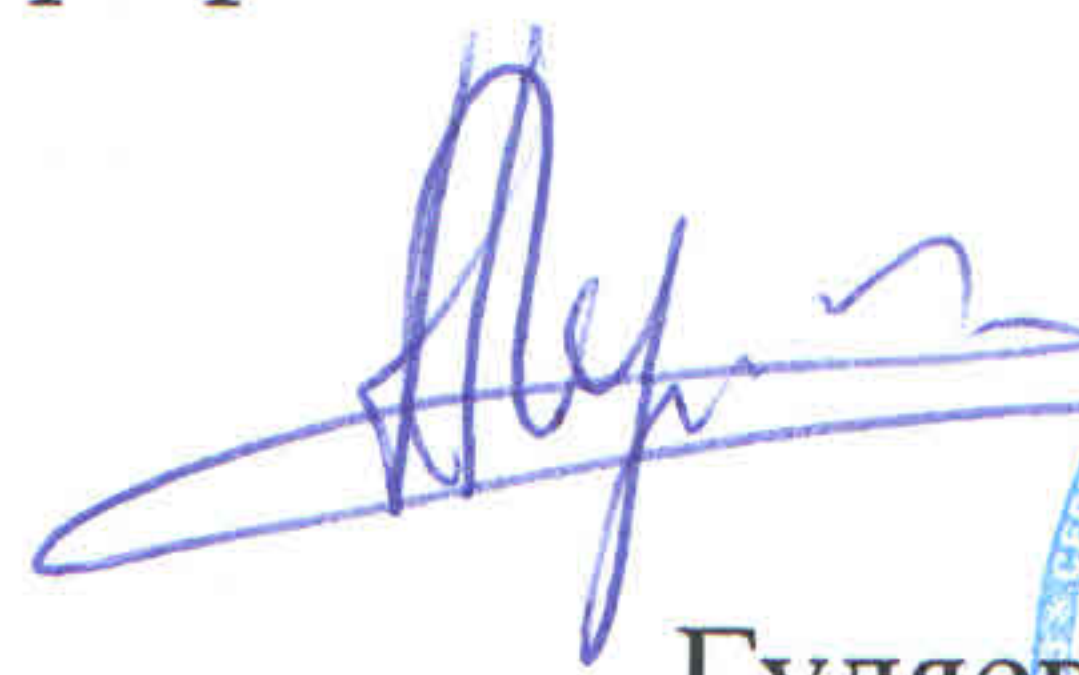
Эти замечания ни в коей мере не снижают высокого мнения о диссертационной работе, которая содержит оригинальный добротный экспериментальный материал и в целом хорошо оформлена.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Ирины Геннадьевны Шалагиновой «Молекулярно-клеточные механизмы развития нейровоспаления при постстрессорных нарушениях поведения у линий крыс с контрастной возбудимостью нервной системы» является законченной самостоятельной научно-квалификационной исследовательской работой, содержащей принципиально новые данные о функционировании регуляторной физиологической оси «микробиота-кишечник-мозг», которые вносят существенный вклад в развитие этой концепции, имеющей важное значение для развития физиологии, а также потенциально - фундаментальной медицины. Высокая актуальность, несомненная научная новизна и современный методический уровень работы позволяют заключить, что диссертационная работа И.Г. Шалагиновой 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.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании лаборатории функциональной биохимии нервной системы Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, протокол № 10 от 18.09 2023 года.

доктор биологических наук, профессор,
главный научный сотрудник, руководитель лаборатории функциональной
биохимии нервной системы Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Институт высшей нервной деятельности и
нейрофизиологии РАН


Гуляева Наталия Валерьевна
E-mail: nata_gul@ihna.ru


Подпись т. Гуляевой Н.В.
УДОСТОВЕРЯЮ
Зав. канц. ИВНД и НФ
Кузмина Т.Н.

Сведения о ведущей организации:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН
117485, Москва, ул. Бутлерова, дом. 5А
тел.: (495) 334-70-00 (секретариат), (495) 789-38-52 (коммутатор)
факс.: (499) 743-00-56
E-mail: admin@ihna.ru
Сайт: <https://www.ihna.ru/>