

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Абрамовой Ольги Вячеславовны
«Активность нейромедиаторных систем и особенности поведенческого
фенотипа у крыс с опытом ультразвукового пренатального стресса»,
представленную на соискание учёной степени кандидата биологических
наук по специальностям 1.5.4 – «биохимия»,
3.3.3 – «патологическая физиология»

Актуальность темы исследования

Диссертационное исследование О.В. Абрамовой посвящено изучению новых механизмов развития аберрантной нейропластичности после перенесенного пренатального стресса. В последние годы существенно вырос интерес к изучению последствий стресса раннего периода жизни, обусловленного действием неблагоприятных факторов в пренатальном, интранатальном или неонатальном периодах, и лежащего в основе феномена раннего программирования, подразумевающего высокую вероятность формирования неврологической дисфункции в отдаленном периоде онтогенеза. Несмотря на то, что к настоящему времени установлены некоторые механизмы, ответственные за развитие неблагоприятных неврологических последствий стресса раннего периода жизни (дисбаланс в продукции гормонов, обеспечивающих стресс-ответ или антистрессовое действие, нарушения механизмов нейрогенеза, синаптогенеза, клеточной гибели, изменения центральной секреции нейропептидов, регулирующих развитие головного мозга и формирование сложных форм поведения), по-прежнему патогенез неврологического дефицита после стресса раннего периода жизни далек от расшифровки. Особую актуальность такие исследования приобретают в контексте необходимости изучения механизмов формирования аберрантного поведения, тревожности, агрессии, когнитивной дисфункции, так как, с одной стороны, эти проявления весьма характерны для последствий перенесенного стресса раннего периода жизни, с другой стороны, высока вероятность того, что детализация этих механизмов позволит достичь прогресса в понимании общих закономерностей развития центральной нервной системы, сформировать принципиально новые подходы к профилактике и терапии широкого спектра

неврологической и психиатрической патологии. Кроме того, работы по проблематике диссертационного исследования О.В. Абрамовой актуальны и в связи с существующей потребностью в разработке новых экспериментальных моделей заболеваний головного мозга, новых подходов к оценке нейроповеденческих нарушений у лабораторных животных.

В целом, диссертация О.В. Абрамовой, в которой успешно выполнен комплексный анализ механизмов развития головного мозга, формирования патологического поведенческого фенотипа и нейрохимических нарушений в ткани головного мозга животных с действием хронического не избегаемого пренатального стресса в анамнезе, является, несомненно, актуальным и своевременным исследованием.

Новизна проведенных исследований и полученных результатов

В диссертации О.В. Абрамовой с использованием оригинальной и интересной модели пренатального стресса (обусловленного непрерывным действием ультразвука переменной частоты на беременную самку в течение гестационного периода) получены научные результаты, обладающие очевидной новизной: а) гендерные особенности и динамическая характеристика формирования патологического поведенческого фенотипа у животных, перенесших пренатальный стресс: превалирование нарушений эмоциональной сферы, социального поведения по типу подавления социальной и игровой активности, повышения интереса к несоциальным объектам по сравнению с социальными объектами, а также формирование нарушений исследовательской активности у самцов; б) дифференцированный характер проявлений неврологического дефицита у животных после стресса раннего периода жизни, в частности, отсутствие изменений показателей долговременной памяти и способности к обучению на фоне выраженных нарушений эмоциональной сферы или социальной когниции; в) потеря ряда корреляционных взаимосвязей в поведенческом фенотипе у самцов, перенесших пренатальный стресс, и приобретение новых – у самок после пренатального стресса; г) гендерные особенности нарушений экспрессии BDNF, окситоцина и некоторых других

нейропептидов у животных после пренатального стресса (повышение уровня серотонина и снижение уровня BDNF у новорожденных самцов, нарушение обмена серотонина и дофамина у взрослых самцов; повышение уровней альфа-МСТГ, бета-эндорфина, окситоцина, субстанции Р у новорожденных самок, повышение уровней серотонина и окситоцина у взрослых самок); д) выраженные различия в показателях активности дофаминергической системы в гиппокампе взрослого потомства и исчезновение характерных для контрольных животных отличий в метаболизме дофамина у самцов и самок, перенесших пренатальный стресс; е) изменения параметров физического развития у самок, перенесших пренатальный стресс, в раннем постнатальном периоде (увеличение массы тела до 9 недели); ж) ограниченные возможности применения нейрорептиков в постнатальном периоде для купирования неврологической дисфункции у животных, перенесших стресс раннего периода жизни (снижение агрессии, увеличение тревожности при фармакотерапии, но в то же время - разнонаправленное действие разных нейрорептиков на социальное поведение).

Таким образом, полученные О.В. Абрамовой новые научные результаты свидетельствуют о том, что: а) использованная модель пренатального стресса позволяет индуцировать формирование патологического поведенческого фенотипа с разной выраженностью у самцов и самок, в некоторых аспектах сходного с аутистическим поведением (что соответствует современным представлениям о механизмах развития заболеваний аутистического спектра); б) нарушения обмена моноаминов в коре и гиппокампе, а также центральной секреции нейропептидов и BDNF могут быть ответственны за гендерные особенности формирования aberrантной нейропластичности, в том числе в контексте нивелирования отличий между полами в показателях нейромедиаторных систем и поведения; в) перенесенный пренатальный стресс имеет своим результатом ранние и отсроченные изменения нейрохимических и поведенческих параметров; г) оценка возможного терапевтического потенциала препаратов, используемых для коррекции неврологического дефицита после стресса раннего периода жизни, должна основываться на комплексном анализе различных поведенческих и нейрохимических параметров у животных разного

пола, при этом высока вероятность проявления как положительных, так и отрицательных эффектов фармакологических агентов в разных тестах; д) научно обоснована модель стресса раннего периода жизни, индуцируемого действием ультразвука в пренатальном периоде развития.

Анализ полученных автором данных подтверждает правильность и актуальность примененного О.В. Абрамовой междисциплинарного подхода к достижению цели и решению задач диссертации, позволившего получить результаты, обладающие несомненной научной новизной.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна

Обоснованность научных положений, выносимых на защиту, а также выводов диссертационной работы, подтверждается следующим: а) автором применены современные исследовательские протоколы, оригинальная модель индукции пренатального стресса, разнообразные и взаимодополняющие методы оценки поведенческого фенотипа и нейрохимического статуса развивающегося мозга; б) в работе удачно использованы современные методы анализа данных, позволившие установить не только новые корреляционные зависимости между отдельными параметрами, но и зарегистрировать формирование или утрату при пренатальном стрессе тех корреляций, которые являются значимыми для животных контрольной группы; в) скрупулезный анализ автором большого массива собственных результатов во взаимосвязи с литературными данными, свидетельствующий о глубоком понимании автором механизмов развития головного мозга и их нарушений при действии неблагоприятных факторов внешней среды; г) рациональный дизайн исследования, грамотное формирование групп животных и достаточный объем выборки; д) представление результатов на конференциях российского и международного уровней, а также в опубликованных работах (14 печатных работ, в том числе 3 статьи в рецензируемых научных изданиях по профильным специальностям диссертации).

На основании этого считаю, что в диссертации О.В. Абрамовой представлены новые, оригинальные, достоверные и обоснованные результаты, корректно обобщенные в выводах, рекомендациях и положениях, выносимых на защиту.

Значимость для науки и практики выводов и рекомендаций

Теоретическая значимость работы определяется ее вкладом в решение важной научной задачи расшифровки новых механизмов формирования аберрантной пластичности головного мозга при действии неблагоприятных факторов внешней среды в раннем периоде онтогенеза. Результаты исследования О.В. Абрамовой существенно расширяют современные представления о механизмах нарушения развития головного мозга, приводящих к изменению сложных форм поведения, в том числе социального, научно обосновывают новую модель пренатального стресса, детализируют некоторые аспекты потенциально нейропротективного эффекта фармакологических препаратов, дополняют представления о гендерных особенностях развития мозга, в том числе в контексте различных патофизиологических и нейрохимических механизмов.

Практическая значимость работы О.В. Абрамовой связана с разработкой и тестированием новой оригинальной модели стресса раннего периода жизни, отработкой комплексного протокола оценки различных фенотипических проявлений феномена раннего программирования, имеющего своим результатом развитие неврологического дефицита в отдаленном периоде онтогенеза. Эти подходы актуальны для развития трансляционных исследований в неврологии и психиатрии, в том числе при изучении механизмов развития нейродегенерации, аутизма, шизофрении и депрессии, а также в нейрофармакологии, в том числе при оценке эффектов лекарств-кандидатов и при выборе биологических маркеров их действия у животных разного возраста и пола.

Таким образом, работа О.В. Абрамовой обладает очевидной теоретической и практической значимостью.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Результаты и выводы диссертационного исследования О.В. Абрамовой могут быть рекомендованы к использованию в следующих областях: а) физиология и патофизиология центральной нервной системы – при изучении механизмов развития головного мозга в норме и при патологии; б) нейрохимия – при изучении вклада различных нейротрансмиттеров, нейротрофинов и нейропептидов в регуляцию пластичности головного мозга в норме и при патологии; в) нейробиология и трансляционные нейронауки – при разработке и валидации новых моделей нарушений развития головного мозга, лежащих в основе патогенеза неврологических и психических заболеваний; г) нейрофармакология – при разработке протоколов тестирования биологических эффектов фармакологических средств, влияющих на сложные формы поведения; д) высшее профессиональное образование в области биологии и медицины. Все указанные направления могут быть реализованы в университетах и академических научных центрах Российской Федерации.

Оценка содержания диссертации в целом. Диссертация О.В. Абрамовой изложена на 208 страницах, состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, списка литературы, приложения. Работа написана академическим языком, читается с интересом, хорошо иллюстрирована рисунками и таблицами.

Во **введении** автор обосновывает актуальность, формулирует цель и задачи, положения, выносимые на защиту, раскрывает новизну, теоретическую и практическую значимость исследования, приводит сведения о личном вкладе, публикациях и об апробации и внедрении результатов работы.

Глава 1 представляет собой обзор литературы. В этой главе автор демонстрирует высокий уровень владения теоретическим материалом по проблематике работы. В обзоре присутствует детальная информация о причинах и механизмах развития стресса раннего периода жизни, о феномене раннего (фетального) программирования, о нарушениях нейропластичности, дисбалансе нейромедиаторов в генезе пренатального стресса, о проявлениях и способах регистрации нарушений поведения у животных, о роли стресса раннего периода

жизни в развитии неврологических и психических заболеваний. Особого внимания заслуживает часть обзора литературы, посвященная моделированию пренатального стресса для воспроизведения патогенеза и клинических проявлений психических заболеваний, обусловленных нарушениями развития головного мозга (шизофрения, аутизм, депрессия). Автор подробно анализирует достоинства и ограничения разных моделей и характеризует возможности применения ультразвука переменной частоты для индукции пренатального стресса у животных.

Глава 2 содержит исчерпывающую информацию о методологии исследования. В работе использовано более 700 животных, все эксперименты выполнены с соблюдением этических норм. Автором подробно охарактеризованы все сформированные группы, представлен графический дизайн, детализированы все примененные протоколы оценки физического статуса, поведения, когнитивного статуса животных (более 15 видов протоколов) и методы оценки секреции нейромедиаторов, нейротрофина и нейропептидов в ткани головного мозга (иммуноферментный, в т.ч. мультиплексный анализ, высокоэффективная жидкостная хроматография), а также методы статистического анализа полученных данных.

Глава 3 составляет основную часть диссертации и содержит последовательное и логичное изложение полученных результатов. Несомненными достоинствами этой главы считаю высокую степень систематизации данных, сопровождение текста подробным иллюстративным материалом, хорошая логика изложения, грамотный статистический анализ данных, а также присутствие кратких резюмирующих положений в заключении каждого из разделов главы, позволяющих оценить взаимосвязь отдельных фрагментов. В тексте этой главы имеются указания на то, в каких печатных работах автора опубликованы результаты.

В **главе 4** автор обсуждает полученные результаты, обобщает их и оценивает различные аспекты влияния пренатального стресса на развитие, поведение, метаболизм нейромедиаторов в ткани головного мозга. Автор демонстрирует в этой главе свою абсолютную зрелость в качестве аналитика и

экспериментатора, для интерпретации собственных результатов исследования О.В. Абрамова привлекает большой объем литературных данных, удачно систематизирует материал, подводя читателя к пониманию особенностей развития пренатального стресса, в целом, и в примененной в исследовании модели, в частности. Именно в этой части диссертации в фокусе находится потенциал работы для будущих трансляционных исследований, и, вероятно, поэтому автор размещает практические рекомендации не в отдельном разделе диссертации, а в тексте главы 4.

В кратком **заключении** автор резюмирует основные экспериментальные находки, которые далее формализованы в **выводах** диссертации.

Выводы соответствуют полученным результатам, достаточно информативны и конкретны.

Список цитируемой литературы содержит 420 источников российских и зарубежных авторов, существенная часть которых представлена работами последних лет.

В **Приложении** автором размещены объемные таблицы с результатами поведенческого тестирования.

Автореферат соответствует содержанию диссертации, хорошо структурирован и информативен. Замечаний принципиального характера по автореферату нет.

Диссертация О.В. Абрамовой производит хорошее целостное впечатление, однако при знакомстве с диссертацией возникли единичные **замечания и комментарии**:

- 1) Считаю, что обзор литературы выиграл бы от присутствия нескольких оригинальных авторских схем, иллюстрирующих современное состояние вопроса патогенеза стресса раннего периода жизни, роли нейромедиаторных механизмов в развитии головного мозга в норме и при патологии (присутствующий в тексте рисунок 1 носит обобщенный характер).
- 2) В тексте диссертации отсутствует обоснование применения выбранных автором доз нейрорептиков для введения экспериментальным животным.

3) В тексте диссертации присутствуют неудачные стилистические обороты («неонатальный нейрогенез» и др.), избыточно длинные предложения, единичные грамматические, пунктуационные ошибки и опечатки («дексометазон», «в течении», серотонинергическая система», «на мг веса ткани исходя из полученных данных», «статистистический анализ» и др.).

Все указанные замечания не носят концептуального характера и не влияют на общее, сугубо положительное впечатление о работе.

В порядке научной дискуссии хотелось бы задать автору **следующие вопросы:**

- 1) С учетом выявленных гендерных особенностей развития нарушений поведения у животных после пренатального стресса, делалась ли ранее – автором или другими исследовательскими группами - попытка оценить характер экспрессии нейростероидов или их рецепторов в ткани головного мозга животных, перенесших стресс раннего периода жизни? Насколько такие данные соответствуют результатам, описанным в диссертации?
- 2) Выявленные особенности секреции и метаболизма нейромедиаторов в гиппокампе и фронтальной коре должны были оказать значимое влияние на формирование когнитивного дефицита, однако это не было зарегистрировано. В чем заключается, по мнению автора, причина отсутствия значимого влияния пренатального стресса в использованной модели на когнитивные функции животных?
- 3) Как автор интерпретирует данные о том, что у беременных самок отсутствовали признаки стрессирующего действия ультразвука? Возможно ли было каким-либо дополнительным методом зарегистрировать развитие хронического стресса и далее использовать такие подходы для «калибровки» эффектов ультразвука у беременных животных при последующей валидации и оптимизации экспериментальной модели? В литературе обсуждается возможная этиологическая роль пренатально примененного ультразвука в патогенезе аутизма. Разделяет ли автор эту точку зрения?
- 4) Каковы, по мнению автора, перспективы использования нейрорепаративов для устранения ранних и отдаленных эффектов пренатального стресса? Какие

молекулы-мишени для действия иных фармакологических препаратов могут быть актуальны для коррекции неврологической дисфункции, индуцированной стрессом раннего периода жизни животных разного пола и возраста?

Заключение

Диссертационная работа Абрамовой Ольги Вячеславовны «Активность нейромедиаторных систем и особенности поведенческого фенотипа у крыс с опытом ультразвукового пренатального стресса» представляет собой законченную научно-квалификационную работу, соответствующую паспорту специальности «биохимия», в частности, пунктам 5, 12, 14 (п. 5 «анализ и синтез биологически активных веществ, выяснение их физиологического действия и возможностей применения полученных веществ в медицине и других отраслях народного хозяйства», п. 12 «механизмы и закономерности обмена веществ в организме человека, животных, растений и микроорганизмов. Клиническая биохимия человека и животных», п. 14 «исследования молекулярных механизмов реагирования клеточных компонентов и живых организмов на проникающую радиацию, ультрафиолетовое и ионизирующее излучение, электромагнитные поля, механические, холодовые, тепловые, химические, токсические и другие экстремальные воздействия»), паспорту специальности «патологическая физиология, в частности, пунктам 2, 5, 9 (п. 2 «изучение общих патогенетических механизмов развития заболеваний, типовых патологических процессов и реакций организма на воздействие патогенного фактора, в том числе механизмов формирования патологических систем и нарушений информационного процесса, обуславливающих развитие заболеваний», п. 5 «изучение механизмов, лежащих в основе различных исходов и осложнений болезни; анализ причин развития неполного выздоровления и формирования на этой основе последующего состояния предболезни», п. 9 «изучение этиологии, патогенетических и саногенетических механизмов при заболеваниях конкретных органов и систем, а также патогенетических основ их клинической симптоматики»). Диссертация О.В. Абрамовой содержит решение актуальной

научной задачи расшифровки новых механизмов и особенностей формирования аберрантной нейропластичности после перенесенного пренатального стресса.

Считаю, что диссертация Абрамовой Ольги Вячеславовны по своей новизне, научной и практической ценности полученных результатов, перспективам их практического применения полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в редакции постановлений правительства Российской Федерации № 335 от 21.04.2016 г., № 748 от 02.08.2016 г., №650 от 29.05.2017 г., № 1024 от 28.08.2017 г., №1168 от 01.10.2018 г., № 426 от 20.03.2021 г., № 1539 от 11.09.2021 г., № 1690 от 26.09.2022 г., № 101 от 26.01.2023 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор – Абрамова Ольга Вячеславовна - заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.4 – «биохимия», 3.3.3 – «патологическая физиология».

Официальный оппонент:

Главный научный сотрудник и заведующий
лабораторией нейробиологии и тканевой инженерии,
заведующий отделом молекулярных и клеточных механизмов
нейропластичности Института мозга
федерального государственного бюджетного
научного учреждения «Научный центр неврологии»,
доктор медицинских наук (3.3.3 – патологическая физиология),
профессор

Алла Борисовна Салмина

Россия, 125367, г. Москва,
Волоколамское шоссе, д.80,
Тел. +7(495)9170999;
E-mail: allasalmina@mail.ru

Подпись доктора медицинских наук, профессора Салминой А.Б. удостоверяю:

Учёный секретарь Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр неврологии», старший научный сотрудник, кандидат медицинских наук

Дмитрий Владимирович Сергеев

« 30 » ноября 2023 г.

