

ОТЗЫВ

официального оппонента д.м.н., профессора Фролова Бориса Александровича на диссертационную работу Комельковой Марии Владимировны на тему: «Патогенетические особенности отсроченных дистрессорных состояний у животных чувствительного и резистентного фенотипов, подверженных хроническому психотравмирующему воздействию (экспериментальное исследование)», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 14.03.03 (3.3.3 согласно новой Номенклатуре научных специальностей) – патологическая физиология

Актуальность избранной темы. Результатом действия экстремального стресса являются психологические, социальные и физиологические эффекты, которые влияют на здоровье, благополучие и продуктивность деятельности человека. Существует значительная разница в том, как люди реагируют на действие психотравмирующих событий. Примерно у 8-12 % индивидуумов после пережитой психотравмы развивается посттравматическое стрессовое расстройство, тогда как абсолютное большинство восстанавливается после стрессовых переживаний, не проявляя существенных симптомов и демонстрируя устойчивость к стрессу.

Устойчивость к травматическому стрессу определяется как совокупность психобиологических факторов, которые позволяют индивидууму пережить действие экстремального стресса. Выявление основных нейроэндокринных компонентов, связанных с устойчивостью, может внести вклад в совершенствование подходов к профилактике и лечению расстройств, связанных со стрессом. В связи с этим, цель представляемой работы Комельковой М.В., которая заключалась в изучении патогенетических особенностей, отсроченных дистрессорных состояний чувствительного и резистентного фенотипов крыс в ответ на хроническое психотравмирующее воздействие, представляется весьма актуальной.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Представленная диссертационная работа соответствует паспорту специальности 14.03.03 (3.3.3 – согласно новой Номенклатуре научных специальностей) – патологическая физиология и включает в себя следующую область исследования: изучение состояния реактивности организма, т.н. комплекса его видовых, половых, возрастных, конституциональных и индивидуальных особенностей, определяющих характер его реагирования на раздражители (п.6).

Автор изучил и проанализировал данные большого массива современных научных публикаций по выбранной теме (обзор литературы включает в себя 489 отечественных и зарубежных источника), благодаря чему получено объективное представление о состоянии изучаемой проблемы и определены цель, задачи и основные положения диссертации. Сформулированные научные положения и выводы имеют обоснование и вытекают из полученных диссертантом результатов.

Достоверность и новизна полученных результатов. Достоверность полученных автором результатов научного исследования представлена и обоснована достаточным количеством экспериментальных данных, необходимых для реализации поставленных задач диссертационного исследования. Диссертационное исследование Комельковой М.В. построено по классическому типу, дизайн эксперимента грамотно спланирован, методы, использованные в работе, аргументированы и адекватны поставленной цели и задачам. Исследование проведено на сертифицированном оборудовании. Данные получены на репрезентативной выборке (301 особь белых крыс-самцов линии Wistar). Полученные в ходе исследования результаты подвергнуты корректной статистической обработке, в ходе которой использовались современные подходы и методы.

Рассматриваемая диссертационная работа представляется самостоятельным комплексным исследованием, в которой диссертант впервые показывает связь между механизмами развития гипокортикостероидемии и формированием поведенческих и метаболических изменений в отдаленный период после завершения эпизодов хронического психотравматического воздействия. Новыми являются данные о взаимосвязи между скоростью микросомального окисления, используемой поведенческой стратегией в момент стрессорного воздействия, особенностями нейрометаболического профиля и устойчивостью к действию хронического психотравмирующего стресса.

Основные положения работы представлены и обсуждены на российских и международных конференциях различного уровня: Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы патофизиологии и биохимии – 2017» (Санкт-Петербург, Россия, 2017), V съезде Российского общества патологоанатомов (Челябинск, Россия, 2017), X Юбилейной Российской научно-практической конференции с международным участием «Здоровье человека в 21 веке» (Казань, Россия, 2018), 46th Annual Conference of the International Society of Psychoneuroendocrinology – Personalized Medicine in the Neurosciences – Genetics, Imaging, and Hormones (Miami, USA, 2016), 48th Annual Conference

of the International Society of Psychoneuroendocrinology (ISPNE) (Irvine, USA, 2018), X Юбилейной Международной научно-практической конференции «Дисфункция эндотелия», (Витебск, Беларусь, 2018), Twelfth Symposium On Catecholamines And Other Neurotransmitters In Stress (Smolenice, Slovakia, 2019), 49th Annual Conference of the International Society of Psychoneuroendocrinology – 50 Years of Psychoneuroendocrinology - Returning to Where It All Began, (Milan, Italy, 2019), The International College of Neuropsychopharmacology (CINP) (Athens, Greece, 2019).

Значимость для науки и практики результатов диссертации.

Результаты диссертационной работы Комельковой М.В. имеют важное теоретическое и практическое значение, так как расширяют представления о патогенетических механизмах развития, отсроченных дистрессорных состояний у животных различных фенотипов в ответ на хроническое психотравматическое воздействие. Автором было установлено, что животные, демонстрирующие пассивно-оборонительную поведенческую реакцию в ответ на действие стрессора и характеризующиеся сниженной активностью ферментов микросомального окисления в печени, в большей степени подвержены формированию чувствительного фенотипа к стрессорным воздействиям.

Прикладной аспект выполненной М.В. Комельковой диссертационной работы связан с тем, что полученные результаты могут быть использованы для разработки методов прогнозирования чувствительности к хроническому психотравмирующему стрессу и коррекции отдаленных последствий психотравмирующего события.

Публикации. Основные результаты диссертационного исследования отражены в 18 научных работах, рецензируемых в научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, а также в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования (Web of Science, Scopus, PubMed). Опубликовано 7 тезисов докладов представленных в сборниках конференций. Получен патент на экспериментальную модель.

Оценка содержания работы. Диссертационная работа Комельковой М.В. построена в соответствии с действующими требованиями и написана научным языком.

Диссертация изложена на 297 страницах машинописного текста и состоит из «Введения», главы «Обзор литературы», главы «Материалы и методы исследования», трех глав результатов собственных исследований, заключения, выводов, списка сокращений и списка литературы.

Во введении автор определяет актуальность темы исследования, научную новизну, теоретическую и практическую значимость, формулирует цель и задачи исследования. Цель исследования сформулирована корректно, задачи исследования соответствуют поставленной цели. Кроме того, во введении отражена информация об апробации и внедрении результатов исследования, личном участии автора в выполненной работе.

В первой главе «Обзор литературы» приведены современные данные о патогенезе посттравматического стрессового расстройства, а также факторах устойчивости и восприимчивости к психотравмирующим событиям. Обзор включает определение понятий стресса и посттравматического стрессорного расстройства (ПТСР), сведения об этиологии и эпидемиологии этих расстройств и их социально-экономических последствиях (разделы 1.1 – 1.3). Обсуждаются различные схемы патогенеза ПТСР, включая биологические, психологические и комплексные модели (1.4). Центральное место обзора занимает раздел (1.5), посвященный механизмам восприимчивости и устойчивости к ПТСР, в котором последовательно анализируется участие в формировании этих оппозитных состояний нейрохимических, нейроэндокринных и нейробиологических факторов регуляторной деятельности мозга. При всей сложности, а подчас и противоречивости данных по этому вопросу, автор достаточно убедительно выделяет основные «узловые точки», характерные для восприимчивого (*гиперактивность дефоминергических нейронов, нарушение экспрессии серотониновых рецепторов, аномально высокий уровень R_2 рецепторов к кортикотропин-рилизинг гормону в BNST мозга, низкий уровень глюкокортикоидов*) и устойчивого (*ослабление норадренергического ответа и активно-оборонительная стратегия поведения*) фенотипов. Заключительные разделы обзора (1.6 – 1.7) посвящены критической оценке подходов к прогнозированию и характеристике результатов лечения ПТСР, а также к анализу экспериментальных моделей этого состояния. Обзор литературы изложен на 36 страницах, написан логично, объективно отражает различные стороны проблемы, представляет значительный познавательный интерес и свидетельствует о глубоком знании автором материала, что позволяет ему оценить современное состояние вопроса для обоснования цели и задач исследования.

В главе «Материалы и методы исследования» дается подробная характеристика применяемых методов исследования. Методы исследования, используемые диссертантом, являются современными и адекватны поставленным задачам.

Третья, четвертая и пятая главы посвящены результатам собственных исследований. В них автор описывает межфенотипические различия животных, разделенных на группы с помощью различных подходов, демонстрирующих неодинаковую чувствительность к хроническому стрессу. В главе 3 представлены материалы, характеризующие состояние центральной и периферической регуляции крыс в отдаленный период (14, 30 сутки) после хронического психотравмирующего воздействия в зависимости от устойчивости или чувствительности к такому воздействию. Корректная верификация этих групп (индекс тревожности $< 0,8$ и $> 0,8$) позволила установить между ними ряд различий, включая особенности обмена нейромедиаторов в определенных структурах мозга. В частности, подъем уровня норадреналина в префронтальной коре и снижение его в среднем мозге, уменьшение (относительно контроля) содержания дофамина в гиппокампе и гипоталамусе, а серотонина в лимбических отделах мозга у чувствительных крыс при умеренном подъеме норадреналина в префронтальной коре и активации обмена дофамина в стриатуме у резистентных животных. Особенности обмена глюкокортикоидов характеризуются снижением содержания кортикостерона в обеих сравниваемых группах на 14 сутки, при значительном более выраженном падении уровня гормона у резистентных крыс. При этом существенно, что к 30 суткам содержание гормона в плазме и в надпочечниках у чувствительного фенотипа продолжал оставаться сниженным, тогда как у резистентных животных эти показатели восстанавливались. Важное значение имеет установленный факт повышенного содержания в мозговой ткани белков теплового шока (HSP-70) у резистентных крыс, что можно рассматривать как проявление мобилизации внутриклеточных защитных механизмов, участвующих в фолдинге белков, устойчивости к апоптозу и санации клеток с помощью шаперонопосредованной аутофагии. Обращают внимание представленные данные относительно более выраженного увеличения содержания в крови чувствительных крыс ИЛ-6 – провоспалительного цитокина, которому придается важное значение в регуляции нейроэндокринной системы (В.Н. Титов, И.Г. Акмаев, А.А. Захаров, Р.В. Петров) и, в частности, в поддержании активности гипофизарно-надпочечникового звена ГГАС при снижении экспрессии мРНК и секреции КРГ в гипоталамусе (И.Г. Акмаев, В.В. Гриневич).

Результаты исследования, представленные в главе 4, демонстрируют важное положение о том, что копинг-стиль в момент предъявления стрессора служит одним из основных факторов, определяющих устойчивость к стрессу. Установлено, что анксиолитическое действие повторного стресса имеет

место только у крыс, использующих активную оборонительную стратегию. Впервые показана связь этой стратегии с состоянием обмена нейромедиаторов в головном мозге. При одинаково повышенном уровне норадреналина в префронтальной коре у стрессированных крыс обеих групп, крысы с пассивной стратегией характеризовались более выраженной активацией метаболизма дофамина в стриатуме. В то же время у животных с активной стратегией регистрировалось значимое снижение концентрации 5-ГИУК (продукта метаболизма серотонина). Последнее обстоятельство можно рассматривать как механизм повышения содержания данного стресс-лимитирующего фактора. Несомненный интерес и важное научное значение представляют впервые полученные данные о разнонаправленном характере инактивации кортикостерона у животных с активной оборонительной реакцией (необратимое окисление в печени с участием изофермента (СУР3А) цитохрома Р450 и пассивной стратегией (обратимая инактивация *in situ* с участием 11 β ГСДГ-2) поведения. Тем самым раскрыт механизм более выраженной депрессии глюкокортикоидной реакции на 14 сутки у крыс, демонстрирующих активно-оборонительный стиль.

В главе 5 приводятся сведения о фенотипических различиях у животных в отдаленный период после хронического стрессорного воздействия, отличающихся по метаболическому статусу, оцениваемому по скорости микросомального окисления гексенала. Установлено более выраженное падение содержания кортикостеронов в крови, но и более быстрое его восстановление в крови и надпочечниках крыс с высоким уровнем микросомальной активности. Выявлено преобладание различных путей инактивации гормона для животных с быстрым (СУР3А) и медленным (11 β ГСДГ-2) типом окисления. Различия регуляторных механизмов в структурах головного мозга характеризовались высоким базальным содержанием норадреналина в среднем мозге и гиппокампе, а также более значимым его подъемом в префронтальной коре после стрессорного воздействия у крыс с низким уровнем активности СУР3А. У животных с высокой активностью микросомального окисления отмечен рост содержания дофамина в стриатуме и падения содержания в префронтальной коре продукта метаболизма серотонина – 5 ГИУК. Последнее обстоятельство в сочетании с низким уровнем тревожности и высокой активностью дает основание для важного заключения о том, что принадлежность животных к фенотипу, резистентному к хроническому психотравмирующему воздействию предопределяет их способность предотвращать падение уровня серотонина после стрессорного воздействия.

Несомненно, положительным моментом являются разделы обсуждения в конце каждой главы, где автор анализирует полученные данные с привлечением литературных источников и изложением собственной позиции. Также в конце каждой главы приводится список работ автора.

В заключении обобщены основные результаты работы и представлена схема включения патогенетических механизмов, отражающая особенности нейротрансмиссии, ассоциированные с возможностью адаптации к хроническому стрессу или с развитием дизадаптации.

Выводы основаны на фактическом материале работы, конкретны и соответствуют цели и задачам исследования. Достаточный объем, высокий методический уровень и адекватная статистическая обработка определяет объективность положений и выводов диссертационной работы.

Представленный автореферат соответствует содержанию диссертации.

Принципиальных замечаний по работе нет.

При ознакомлении с содержанием диссертационной работы возникли некоторые вопросы, носящие, в целом, дискуссионный характер, но требующие разъяснения:

1. Каковы представления автора о роли центральных стресс-лимитирующих механизмов и их возможном вкладе в механизмы нейротрансмиссии при формировании адаптации к хроническому стрессу?

2. При справедливом замечании об обратной зависимости эффектов провоспалительных цитокинов от уровня кортикостерона, чем объясняется более значимое снижение ИЛ-6 при более низких значениях содержания гормона у резистентного фенотипа животных?

3. Каким представляется механизм супрессии активности СYP3A с участием ИЛ-6 у чувствительного фенотипа крыс?

Указанные вопросы не влияют на позитивную оценку диссертационной работы.

Заключение. Диссертационная работа Комельковой Марии Владимировны: «Патогенетические особенности отсроченных дистрессорных состояний у животных чувствительного и резистентного фенотипов, подверженных хроническому психотравмирующему воздействию (экспериментальное исследование)», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 14.03.03 (3.3.3 согласно Новой номенклатуре научных специальностей) – патологическая физиология, представляет собой законченную самостоятельно выполненную квалификационную научно-исследовательскую работу, содержащую решение конкретной научной проблемы, заключающейся в теоретико-экспериментальном обосновании развития отсроченных дистрессорных

состояний в ответ на хроническое психотравматическое воздействие у животных в зависимости от фенотипической принадлежности.

Работа по своей актуальности, научной новизне, научной и практической значимости, объему исследований отвечает требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям согласно раздела II «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (с послед. изм. и ред.), и может быть рекомендована для защиты в диссертационном совете по специальности 14.03.03 (3.3.3 согласно новой Номенклатуре научных специальностей) – патологическая физиология. Автор диссертации заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология.

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой
патологической физиологии
ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава России



Б.А. Фролов

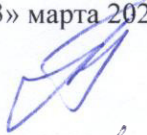
Подпись д.м.н., проф. Фролова Б.А.
ЗАВЕРЯЮ
Начальник отдела кадров
ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава России




Е.Н. Бердникова

Фролов Борис Александрович – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России. Адрес организации – 460000, Российская Федерация, Оренбургская область, г. Оренбург, ул. Советская/ул. М.Горького/пер. Дмитриевский, 6/45/7, телефон: (3532) 50-06-06 (доб.601), E-mail: orgma@esoo.ru

Отзыв официального оппонента Фролова БА. поступил «03» марта 2022 г.
Ученый секретарь Совета Д 004.027.02


И.А. Тузанкина

С отзывом официального оппонента ознакомлена «03» марта 2022 г.
Соискатель


М.В. Комелькова