



Клименко  
007

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
**«ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ»**  
**(ФГБНУ «ИЭМ»)**

ул. Академика Павлова, 12, Санкт-Петербург, 197376  
телефон: +7 (812) 234-6868, факс: +7 (812) 234-9489, e-mail: iem@iemgrams.ru

« 30 » 05 20 16

№ 2016-УС/167

**ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

доктора медицинских наук, профессора Виктора Матвеевича Клименко на диссертационную работу Дмитрия Александровича Смагина «Повторный опыт агрессии и последствия ее депривации у самцов мышей: исследование поведенческих и нейробиологических изменений», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук в специализированный Диссертационный совет Д 002.020.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук по специальности 03.03.01 – физиология.

**Актуальность работы.** Проблема изучения агрессивного поведения является одной из наиболее весомых в социологии, психологии и биологии в целом. Будучи атрибутивным свойством психологии спортсменов, военнослужащих, сотрудников спецслужб, умеренно выраженная агрессия в определенных обстоятельствах трансформируется в гиперагрессию и приводит к тяжелым последствиям вплоть до жертв. Среди таких обстоятельств могут быть затянувшиеся межличностные конфликты, неврозы, психозы, нейродегенеративные заболевания и, как показывают наши исследования в Физиологическом отделе имени И.П. Павлова, и

посттравматические стрессовые расстройства. Совершенно очевидно, что для анализа нейробиологических основ агрессивного поведения, понимания нейрофизиологических механизмов, нейрохимических процессов, продолжения разработки фармакологических средств устойчивого селективного подавления агрессивной гипермотивации требуется кропотливое моделирование процессов на животных.

Диссертационная работа Д.А. Смагина является логическим продолжением исследований, проводимых на протяжении более двадцати лет в Институте цитологии и генетики СО РАН в Новосибирске под руководством Н.Н. Кудрявцевой по изучению механизмов агрессивного поведения у мышей. В этих исследованиях было убедительно показано, что под влиянием длительного опыта агрессии во внутривидовых агонистических взаимодействиях, у самцов мышей развивается патология поведения, которая сопровождается повышенной агрессивностью и импульсивностью, формированием тревожности, нарушением когнитивных функций и мотивационного поведения, появлением неврологических симптомов, таких как гиперактивность, признаков дефицита внимания, стереотипий и др. Дмитрий Александрович Смагин впервые провел актуальное исследование поведенческого феномена, доселе неизвестного в мировой научной литературе, а именно, усиления агрессивности у самцов мышей с повторным опытом агрессии, сопровождаемого победами, после периода прекращения агонистических взаимодействий, который в работе получил название периода депривации.

**Степень обоснованности научных положений и выводов диссертации.** В экспериментах проведенных автором этот феномен был убедительно подтвержден в различных ситуациях и проанализирован. У подавляющей части самцов (около 70), независимо от содержания в разных условиях, выявлено статистически значимое усиление агрессивности после 14-дневного периода депривации, во время которого

самцы не вступали в агрессивные взаимодействия. Период в 14 дней был выбран обоснованно. Согласно международной классификации болезней является общепринятым, что если возникшие под влиянием психопатогенных факторов среды или экспериментального воздействия изменения в поведении и психоэмоциональном состоянии в течение этого периода не проходят при исчезновении действия этиологических факторов, их вызвавших, значит можно с уверенностью думать о развитии патологического состояния, которое требует медикаментозной коррекции. Именно этот основополагающий тезис предопределил все исследования автора диссертации, подтвердившего развитие патологии поведения у самцов мышей.

Первое: было показано, что содержание самцов мышей с длительным опытом агрессии в период депривации с другим самцом, находившимся с ним в одной клетке, но отделенным преградой, не позволявшей им физически взаимодействовать друг с другом, приводит к усилению агрессивности. Так же помещение с самками «*ad libitum*» (самки менялись каждые три дня, чтобы избежать отсутствия самок, готовых к спариванию), значительно усилило агрессивность после периода депривации, что связывалось с возможным повышенным уровнем тестостерона, который считается «гормоном агрессии». Второе: состояние повышенной тревожности, которое развивается под влиянием повторного опыта агрессии, не проходило после периода депривации, как, впрочем, и сохранялась повышенная двигательная активность. Третье: повышенная пролиферация клеток в зубчатой извилине гиппокампа, оцениваемая по числу Brdu-положительных клеток, которая формировалась под влиянием повторного опыта агрессии (абсолютно новый, впервые установленный феномен), также сохранялась и после депривации, как и сниженная нейронная активность в миндалине, оцениваемая по числу c-fos-положительных клеток. Приведенные данные расширяют современные

представления о механизмах нейрональной пластичности, вовлекающей клеточный уровень регуляции поведения.

Таким образом, постдепривационный период не приводит к восстановлению многих измененных поведенческих и клеточных показателей, изменившихся у самцов под влиянием повторного опыта агрессии, и используемая автором модель позволяет исследовать этот феномен. Все эти результаты убедительно подтвердили развитие психоэмоционального расстройства и патологических состояний под влиянием повторного опыта агрессии. Этот поведенческий подход с подробным описанием методов индукции и тестирования коллективом авторов с участием Д.А. Смагина предлагается для моделирования неврологических расстройств в опубликованной в Nature Protocols работе.

Автором диссертации были предприняты исследования по возможной фармакологической коррекции повышенной агрессивности у самцов мышей. В частности, в период депривации в условиях свободного выбора наряду с водой самцам предлагался раствор сахарозы, который является предпочитаемой жидкостью у мышей. Результаты этого достаточно сложного и многокомпонентного эксперимента выявили некоторое ослабляющее воздействие потребления сахарозы на повышенную агрессивность, возможно, за счет ее анксиолитического действия. Однако 50% самцов после периода депривации все же демонстрировали повышенную агрессивность.

Помимо сахарозы, с целью коррекции агрессивности были использованы препараты с разными механизмами действия, применяющиеся для этих целей в клинике – вальпроат натрия, хлорид лития и налтрексон. Эффекты последних двух препаратов были подробно исследованы при остром и хроническом введении. Интересно, что препараты оказывали разный эффект в зависимости от способа введения (острое введение или же хроническое введение) либо в зависимости от

длительности опыта агрессии мышей. На основании различий эффектов острого введения препаратов самцам мышей с кратковременным и длительным опытом агрессии, делался вывод о характере измененности состояния исследуемой системы, на которую влиял препарат. При хроническом воздействии препараты вводили превентивно с целью предотвращения развития повышенной агрессивности, или же лечебно – с целью снизить уже сформированную повышенную агрессивность.

Исследования Д.А. Смагина свидетельствуют о том, что препараты эффективны в снижении агрессии у самцов с небольшим опытом агрессии и малоэффективны у самцов с длительным опытом агрессии. Делается вывод, что повторный опыт агрессии модифицирует эффекты препаратов, используемых в терапии патологических состояний, сопровождающихся повышенной агрессивностью. Автор приходит к заключению о необходимости увеличения доз препаратов для индивидов с повторным опытом агрессии с целью достижения их эффекта. Можно допустить, что такой результат может оказаться связанным с токсическим действием используемых веществ, на это указывают данные, полученные с использованием вальпроата натрия. Возможно, решение будет найдено в будущем в результате разработки препаратов нового поколения.

**Теоретическая и практическая значимость.** Известно, что повторяющаяся агрессия сопровождает развитие многих психоэмоциональных и неврологических расстройств, таких как биполярное расстройство, шизофрения, болезнь Альцгеймера и др., являясь их следствием. Кроме того, повышенная агрессия может становиться социальной проблемой при некоторых специфических условиях. Автором показаны глубокие и пролонгированные изменения, возникающие под влиянием длительного опыта агрессии. Именно поэтому представленная работа является чрезвычайно значимой в практическом отношении. Экспериментальный подход может быть полезен для изучения

механизмов развития повышенной агрессивности и при разработке адекватных способов ее фармакологической коррекции. Полученные результаты крайне актуальны для специалистов в области биологической психиатрии, педагогики и психологии.

Надо отметить, что использованная в исследовании модель достаточно трудоемка и затратна по времени, требует от исполнителя этой поведенческой методики большого опыта работы и знания механизмов агонистического поведения у мышей. Исследования выполнены на большом количестве животных с использованием многих экспериментальных групп (контроль, агрессоры после 3-х, 10-и, 20-и конfrontаций, а также после депривации). Длительность одного эксперимента могла достигать полутора месяцев, после которого автор еще длительно обрабатывал видеофайлы с записями поведения животных в различных поведенческих тестах, которые использовались с целью выявления механизмов приложения препаратов. Для этого автору понадобилось освоить и овладеть современными программами регистрации и анализа поведенческих данных.

**Степень достоверности.** Представленный в диссертации объемный экспериментальный материал получен с применением современных методических подходов в области изучения поведения, а так же фармакологических исследований и иммуногистохимического анализа, полностью соответствует поставленным задачам. Следует отметить высокую степень достоверности полученных результатов, выявленную с использованием адекватных статистических методов. Полученные данные представляют новые механизмы формирования патологии поведения под влиянием социальных средовых факторов, актуальны и важны для понимания последствий повторного опыта агрессии, приобретаемого в социальных взаимодействиях.

**Структура диссертации.** Работа изложена на 123-ти страницах машинописного текста и включает разделы: Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты. Обсуждение полученных результатов представлено по ходу изложения результатов, а также в разделе «Общая дискуссия». Список литературы включает 259 источников, а результаты проиллюстрированы 22-мя рисунками и 14-ю таблицами.

В **обзоре литературы** излагаются общие сведения по классификации агрессии у людей и животных, приводятся данные по вовлечению в регуляцию агрессивного поведения определенных структур головного мозга и роли различных медиаторных систем, описываются модели агрессивного поведения животных. Последний раздел посвящен подробному описанию использованной в работе модели по исследованию эффектов повторного опыта агрессии и полученных ранее данных.

В главе **«Материалы и методы»** подробно описываются поведенческие тесты, используемые в работе для выявления изменений в поведении и психоэмоциональном состоянии самцов мышей под влиянием повторного опыта агрессии, приводятся протоколы поведенческих, фармакологических и иммунохимических исследований, а также описываются методы статистического анализа результатов, полученных на большом экспериментальном материале. Иммунохимические исследования проводились в Cold Spring Harbor Laboratory, США под руководством профессора Ениколопова Г.Н.

В главе **«Результаты исследований и обсуждение»** представлены данные по пролонгированным эффектам повторного опыта агрессии, которые после периода депривации обнаруживаются по многим поведенческим показателям, а также описываются результаты фармакологических и иммуногистохимических исследований. Итоги исследования автор диссертации резюмирует тем, что повторный опыт агрессии формирует у самцов мышей постдепривационный синдром,

сопровождающийся усилением агрессивности, увеличением пролиферации клеток в зубчатой извилине гиппокампа и снижением нейрональной активности в базолатеральной области миндалины.

Все пять **выводов** диссертации полностью базируются на полученных результатах, а три положения, выносимых на защиту убедительно доказываются материалами работы. Результаты исследований Дмитрия Александровича Смагина опубликованы в 17 работах, из них 10 в рецензируемых зарубежных (5 статей) и отечественных (5 статей) журналах и отражают все основные материалы диссертации. Поведенческая методика опубликована в престижном издании Nature Protocols.

Принципиальных замечаний по диссертационной работе у меня нет. Однако можно упомянуть некоторую сумбурность изложения, которая, по всей видимости, обусловлена большим количеством материала.

**Заключение:** Диссертационная работа Д.А. Смагина «Повторный опыт агрессии и последствия ее депривации у самцов мышей: исследование поведенческих и нейробиологических изменений» является законченной научно-квалификационной работой. Диссертация содержит оригинальные результаты в области физиологии и нейробиологических исследований. Статистический анализ полученных результатов проведен корректно. Выводы обоснованы. По актуальности, объему выполненных исследований, научной новизне, методическому уровню и научно-практической значимости полученных результатов диссертационная работа Д.А. Смагина полностью соответствует требованиям Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а автор Смагин Дмитрий Александрович заслуживает присуждения



ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01.  
– физиология.

Клименко Виктор Матвеевич  
заведующий Физиологическим отделом им. И.П. Павлова,  
заведующий Лабораторией нейробиологии интегративных функций мозга  
ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»  
доктор медицинских наук, профессор



В.М. Клименко

30.05.2016.

Почтовый адрес:  
197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, д. 12.  
Тел. 8(812)2349937  
Факс - +7(812)2349326  
E-mail: [klimenko\\_victor@mail.ru](mailto:klimenko_victor@mail.ru)

Подпись *Клименко В.М.*  
Удостоверяется  
Специалист по кадрам ФГБНУ «ИЭМ»

*Шевченко И.А.*  
