

ОТЗЫВ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН о научно-практической ценности диссертационной работы СУДОРГИНОЙ ПОЛИНЫ ВЯЧЕСЛАВОВНЫ «УЧАСТИЕ НИТРЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ПРИЛЕЖАЩЕГО ЯДРА И МЕДИАЛЬНОЙ ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ В РЕГУЛЯЦИИ ПОСЛЕДСТВИЙ ФОРМИРОВАНИЯ УСЛОВНОРЕФЛЕКТОРНОЙ РЕАКЦИИ СТРАХА», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – «физиология»

Актуальность работы

Диссертационная работа Полины Вячеславовны Судоргиной посвящена актуальной проблеме нейробиологии - исследованию механизмов межклеточной химической сигнализации, в частности механизмов передачи сигналов окисью азота (NO) и участие нитрергической системы мозга в организации поведения. Окись азота является короткоживущим соединением, что затрудняет прямое определение его продукции, в связи с этим для прижизненной регистрации продукции NO в мозге свободно движущихся животных используют микродиализный мониторинг L-цитруллина, со-продукта синтеза NO. Работа П.В. Судоргиной представляет собой комплексное исследование на бодрствующих крысах.

Актуальность исследования Судоргиной П.В. подтверждается большим интересом к данной проблеме в мире и, в особенности при изучении организации поведения [см. обзоры Golombek et al., 2004; Del Bel et al., 2005; Nelson et al., 2006]. Одной из важных форм поведения, нуждающихся в изучении, является проявление и формирование страха, в регуляции которого

окись азота может принимать участие. Автором выбраны наиболее причастные к формированию страха структуры мозга – это медиальная префронтальная кора и прилежащее ядро, и показан вклад этих структур в процессы реализации и консолидации условнорефлекторной реакции страха и его последствий. Широкий спектр фармакологических реагентов, использованных для инфузий у бодрствующего животного в условиях свободного поведения, является несомненной ценностью работы. Диссертационная работа построена на большом экспериментальном материале, который подвергся тщательному статистическому анализу с применением современных различных методов. Методическая часть работы, физиологические и статистические методы анализа и оценки экспериментальных данных свидетельствует о высоком уровне исследования и адекватности методов поставленной цели, что позволило автору впервые получить новые результаты значимые для понимания функций NO-ергической систем медиальной префронтальной коры и прилежащего ядра.

Работа имеет фундаментальный характер, что является несомненным достоинством исследования.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания использовавшихся в ходе исследования методов, результатов работы, а также их обсуждения, и завершается перечислением выводов и списком литературы. Диссертация изложена на 140 страницах печатного текста, включает 33 рисунка и 4 таблицы. 43 цитированных источника являются отечественными, 268 - иностранными.

Обзор литературы (Глава 2)

Обзор занимает 39 страниц и состоит из 4-х глав (2.1-2.4). В обзоре содержатся сведения о синтезе и метаболизме окиси азота в центральной нервной системе, (2.1), о морфологии и функциях префронтальной коры, в частности, ее медиальной части, и ее нитрергической системы, а также роли в организации поведения животных (2.2), строения и функции стриатума и, в частности, одного из его образований - прилежащего ядра и его нитрергической

системы(2.3). Глава 2.4 посвящена обоснованию актуальности исследования с подробным разбором научных и методологических подходов для решения поставленных задач.

Материалы и методы исследования (Глава 3)

Изложен раздел исключительно детально и занимает главы 3.1-3.9. В них описаны характеристика прижизненного внутримозгового микродиализа, изготовление и имплантация диализных канюль (3.1-3.4), микродиализные эксперименты с введением фармакологических препаратов (3.5), поведенческие эксперименты с применением микродиализа (3.6). Отдельные подглавы посвящены качественному и количественному анализу диализата на содержание аминокислот, морфоконтролю и статистической обработке полученных результатов.

Результаты

Экспериментальная часть работы изложена на 50-ти страницах, и помимо собственно результатов исследования содержит после каждой главы обсуждение полученных данных, что способствует углубленному пониманию проблемы и полученных результатов.

Первая экспериментальная глава (Глава 4.1.)

Первая глава посвящена влиянию введений в прилежащее ядро антагониста D2 рецепторов дофамина раклопрайда и агониста NMDA рецепторов глутамата NMDA на уровень внеклеточного цитруллина в прилежащем ядре

В этой части работы в модельных фармакологических экспериментах были изучены влияния дофаминергической D2-рецепторной регуляции на активность нейронной NO синтазы в прилежащем ядре. Было показано, что введения антагониста D2 рецепторов дофамина раклопрайда в медиальный отдел прилежащего ядра снижали вызванный стимуляцией NMDA рецепторов глутамата подъем уровня внеклеточного цитруллина в этой структуре.

Вторая экспериментальная глава (Глава 4.2)

Во второй главе результатов исследовали влияние блокады D2 рецепторов дофамина прилежащего ядра, осуществляемой во время реализации условнорефлекторной реакции страха, на уровень внеклеточного цитруллина в

прилежащем ядре в ходе этого теста и во время исследовательской активности в новой обстановке через сутки после введений. Впервые продемонстрирована активация нитрергической системы прилежащего ядра в ходе исследовательского поведения в новом пространственном окружении и снижение такой активации, а также самой исследовательской активности, перенесенным за сутки до тестирования стрессом, который был вызван выработкой условнорефлекторной реакцией страха. Впервые установлено, что блокада D2 рецепторов дофамина прилежащего ядра, осуществляемая во время реализации условнорефлекторной реакции страха, препятствует торможению исследовательского поведения через сутки после введений, а также снижению нитрергической активации, сопровождающей такое поведение.

Третья экспериментальная глава (Глава 4.3)

Показано, что выработка и реализация условнорефлекторной реакции страха сопровождается активацией нитрергической системы медиальной префронтальной коры, а также установлено, что уровень нитрергической активации медиальной префронтальной коры во время выработки условнорефлекторной реакции страха выше у животных, демонстрирующих впоследствии низкую генерализацию этой условнорефлекторной реакции, и не коррелирует с уровнем ее реализации. Впервые продемонстрировано, что введения ингибитора нейронной NO синтазы N^ω-пропил-L-аргинина в медиальную префронтальную кору в ходе выработки не нарушают процесс формирования этой условнорефлекторной реакции, но вызывают рост уровня ее генерализации.

Теоретическое и практическое значение работы

Работа носит фундаментальный характер. Теоретическое значение работы состоит в том, что в ней впервые показано участие нитрергической системы прилежащего ядра и медиальной префронтальной коры в формировании поблочных проявлений страха, вызываемых выработкой и реализацией условнорефлекторной реакции страха, что расширяет имеющиеся представления о рецепторных механизмах дофаминергической регуляции

нитрергической передачи в прилежащем ядре. Эти данные могут иметь потенциальную практическую значимость для разработки подходов, направленных на коррекцию поведенческих последствий стресса.

Полученные в работе данные об активации нитрергической системы медиальной префронтальной коры во время выработки и реализации условнорефлекторного страха впервые демонстрируют ее участие в ограничении неоправданного страха. Эти сведения могут быть полезными для разработки подходов коррекции генерализованного страха, сопровождающего многие стрессовые расстройства.

Новизна полученных результатов

В работе впервые показано, что D2 рецепторы дофамина участвуют в активации нитрергической системы прилежащего ядра, вызываемой стимуляцией NMDA рецепторов глутамата, а также реализацией условнорефлекторной реакцией страха.

Впервые продемонстрирована активация нитрергической системы прилежащего ядра в ходе исследовательского поведения в новой камере и снижение такой активации в результате стресса перенесенным за сутки до тестирования.

Впервые показано, что выработка и реализация условнорефлекторной реакции страха сопровождается активацией нитрергической системы медиальной префронтальной коры, причем уровень нитрергической активации во время выработки условнорефлекторной реакции страха выше у животных, демонстрирующих впоследствии низкую генерализацию этой условнорефлекторной реакции, но не коррелирует с уровнем ее реализации. Впервые продемонстрировано, что введения ингибитора нейронной NO синтазы N^ω-пропил-L-аргинина в медиальную префронтальную кору в ходе выработки УРС не нарушают процесс формирования этой реакции, но вызывают рост уровня ее генерализации.

Положения, выносимые на защиту. Их 2.

1. Нитрергическая система прилежащего ядра активируется во время реализации УРС, а также в ходе исследовательского поведения в новом пространственном окружении. Дофаминергический вход прилежащего ядра и D2 рецепторы дофамина участвуют в регуляции активности нитрергической системы этой структуры во время реализации УРС, но такая D2-зависимая регуляция не направлена на контроль поведенческих проявлений страха в ходе этого теста. Во время реализации УРС D2 рецепторы дофамина участвуют в формировании пластических перестроек, вызываемых стрессом, связанным с реализацией, которые через сутки приводят к торможению исследовательского поведения и сопровождающей его нитрергической активации прилежащего ядра.

2. Нитрергическая система медиальной префронтальной коры активируется в ходе выработки и реализации УРС. Активация нитрергической системы медиальной префронтальной коры в ходе формирования УРС, но не на этапе ее реализации, вносит вклад в регуляцию последующей генерализации этой условнорефлекторной реакции, но не влияет на сам процесс ее формирования.

Оформление

Диссертация изложена понятным, грамотным языком, текст диссертации логично структурирован, все рисунки информативны, высокого качества. Автореферат отражает содержание диссертации.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 22 научных работы: 5 статей списка ВАК в центральных российских рецензируемых журналах и 17 тезисов.

Замечания

Стр.8. Цель и задачи исследования

Автор называет три цели исследования. На мой взгляд, цель всего одна, а именно изучить участие нитрергической системы двух выбранных структур мозга – прилежащего ядра и медиальной фронтальной коры – в регуляции условнорефлекторной реакции страха.

Стр. 39-45. Литературный обзор

глава 2.2. Литературные данные по префронтальной коре приматов освещать нет необходимости, интересны лишь основные отличия этой области с крысами.

глава 2.3. Обзор по стриатуму слишком подробен, целесообразно ограничиться прилежащим ядром.

Стр.66 Морфологический контроль

Не приведены результаты морфологического контроля.

Стр.91. Обсуждение результатов главы 4.

Наиболее интересным в этой серии опытов являются данные, полученные при применении дифференцировочного сигнала, которые выявили «хорошую» и «плохую» дифференцировку у разных крыс, несмотря на то, что реализация основного рефлекса не различалась. Ответ на дифференцировочный сигнал выявляет разницу в когнитивных способностях субъекта, который должен оценить прогноз наличия или отсутствия подкрепления. А это в свою очередь связано с индивидуальными особенностями субъекта. В нашей лаборатории проводятся исследования на высоко- и низкотревожных крысах (Павлова с соавт, Зайченко с соавт) и показано, как эти группы крыс по-разному ведут себя и в тесте «открытое поле» и в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт». Возможно, эти различия могут быть обусловлены и различиями в реакциях нитрергической системы медиальной префронтальной коры, если исходно учесть различный уровень тревожности.

Представляет интерес исследовать корреляционные отношения двух исследованных структур и сравнить данные при выработке, реализации условнорефлекторной реакции страха, в последствии и во всех контролях. Все замечания носят дискуссионный характер и не умаляют высокого современного уровня диссертационной работы как по ее методическим, так и методологическим подходам.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Результаты и выводы диссертационной работы могут быть использованы

в научно-исследовательской работе ИВНД и НФ РАН, на факультетах функциональной медицины и биологическом МГУ им. М.В. Ломоносова, биологических факультетах Санкт-Петербургского и Приволжского государственных университетов, Института эволюционной физиологии и биохимии РАН, Научного центра неврологии, Института нормальной физиологии им. П.К. Анохина.

Заключение

Диссертация П.В. Судоргиной выполнена на высоком научном уровне с применением комплекса нейробиологических, нейрофармакологических и поведенческих современных методик. Это научная квалификационная работа, в которой получены новые важные результаты об участии нитрергической системы медиальной фронтальной коры и прилежащего ядра мозга крыс в регуляции условнорефлекторной реакции страха.

Работа соответствует критериям ВАКА для кандидатских диссертаций «Положение о порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013г. №842 пп9-14, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности «физиология» (03.03.01).

Отзыв на диссертационную работу П.В. Судоргиной обсужден и утвержден на заседании лаборатории условных рефлексов и физиологии эмоций Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН 10 октября 2016г. (протокол № 5).

Главный научный сотрудник
Лаборатории условных рефлексов
и физиологии эмоций Федерального
государственного бюджетного учреждения науки
Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН
Доктор биологических наук Мержанова Г.Х.

Секретарь заседания Лаборатории условных рефлексов
и физиологии эмоций Федерального государственного
бюджетного учреждения науки Института
высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН
кандидат биологических наук Сидорина В.В.

Подпись: Г.Х. Мержанова, В.В. Сидорина
Удостоверение
№... канц. ИВНД и НФ

8