

*Сергей*

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

**Судоргиной Полины Вячеславовны**

**«Участие нитергической системы прилежащего ядра и медиальной префронтальной коры в регуляции последствий формирования условнорефлекторной реакции страха», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.**

### **Актуальность избранной темы.**

Согласно Г. Селье, любой по модальности фактор, воздействующий на организм и нарушающий гомеостазис, для того, чтобы запустить стресс-ответ, должен обладать новизной. Вместе с тем, и сама новизна ситуации, окружающей обстановки или параметра стимула могут вызвать так называемый «стресс новизны», взаимосвязанный с эмоциональным стрессом. Если стресс новизны сопряжен с двигательными и висцеральными реакциями ориентировочного рефлекса, торможение которых дает возможность оценить новую информацию об изменившейся окружающей среде, то эмоциональный стресс, в зависимости от объема информации и степени ее новизны, в соответствии с информационной теорией эмоций П.В. Симонова, может отражаться в росте уровня тревожности или реакции страха и, через повышение возбудимости структур ЦНС, способствовать выбору программы стресс-ответа (например, исследовательского поведения или избегания) и ее реализации. Взаимосвязанность этих типов стресса указывает на возможность общих для них структур и нейрохимических механизмов. Однако вопрос пока открыт.

Известно, что реакция страха может иметь условнорефлекторный характер. В реальной жизни, например, у лиц, переживших бомбежки или воздействия природных стихий (землетрясений, наводнений и т.п.), это



может быть одним из факторов формирования психопатологий, характерных для посттравматических стресс-обусловленных расстройств, реализуемых при повторных воздействиях тех же или сходных стресс-факторов. Это подчеркивает актуальность проблемы для клиники XXI –го века.

Результаты исследований последних лет (в том числе, выполненных ранее с участием диссертанта) свидетельствуют о ключевой роли прилежащего ядра и медиальной префронтальной коры в церебральной системе страха. Вместе с тем, недостаточно изучены специфика роли различных медиаторных систем этих структур в формировании, реализации и контроле генерализации условнорефлекторной реакции страха, взаимосвязанной с дифференцировкой специфически опасных или неспецифических факторов, вызывающих страх.

Результаты исследований по этой сложной проблеме могут быть использованы в последующих разработках теоретических основ физиологии и нейрохимии стресса, а также при создании новых фармакологических корректоров посттравматических стрессорных расстройств. Кроме того, результаты исследований по теме, выбранной диссертантом, могут быть использованы в лекционном курсе «Эндокринология стресса», читаемом для магистров 2-го года обучения в Санкт-Петербургском государственном университете.

Вышеизложенное свидетельствует о несомненной теоретической и практической актуальности темы диссертационной работы Полины Вячеславовны Судоргиной, посвященной роли нитергических систем медиальной части прилежащего ядра (*N. accumbens*) и медиальной префронтальной коры в формировании, реализации и генерализации условнорефлекторной реакции страха в условиях стресса новизны.

Достоверность и обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, а также сформулированных в диссертации основных положений, выносимых на защиту, обусловлены комплексным подходом к решению проблемы. Диссертационную работу отличают: методологическая



обоснованность и непротиворечивость исходных теоретических положений исследования; репрезентативность выборки (122 крысы с вживленными канюлями); правильный выбор критериев оценки стресс-реакций; применение объективных и информативных методов исследования; оригинальная методология построения самого эксперимента; тщательная и корректная статистическая обработка результатов; адекватная интерпретация полученных экспериментальных данных. Научные положения и выводы вытекают из результатов проведенных исследований и полностью им соответствуют.

**Личный вклад соискателя.** Соискателем самостоятельно проведен анализ научной литературы по теме исследования и обоснована ее актуальность; сформулированы цели и задачи исследования; создан оригинальный дизайн эксперимента и проведены исследования; выполнена статистическая обработка результатов исследования; написана и оформлена работа; подготовлены публикации и доклады по теме диссертации.

**Научная новизна результатов исследования.** Тестируя *in vivo* методом микродиализа уровень синтеза NO по внеклеточному содержанию его ко-секрета цитрулина в структурах мозга, а также используя селективный антагонист нейрональной NOS (nNOS), автор впервые доказала, что в медиальной части прилежащего ядра и медиальной префронтальной коре у крыс именно нейроны, а не глиоциты секретируют NO и являются компонентом нитергической системы формирования, реализации и контроля генерализации условнорефлекторной реакции страха и ее двигательных проявлений. С помощью фармакологического анализа в диссертационной работе П. В. Судоргиной впервые показано, что в медиальной части прилежащего ядра активация ассоциированной с плазмалеммой и NMDA рецептором nNOS происходит с участием глутамата и под контролем дофамина. Автором впервые доказана важность D2



рецепторов для активации нитрических нейронов прилежащего ядра и регуляции их ответов на глутамат, опосредованных через NMDA-рецепторы.

Диссертант логично обосновывает свое предположение, что механизм действия дофамина через рецепторы D2, сопряженные с Gi/o, может включать пресинаптическое торможение секреции ГАМК и последующее «растормаживание» нитрических нейронов, аддитивное активирующему Ca-CaM-зависимому действию NMDA (как агониста) и глутамата.

Автором впервые проанализирована структурно-функциональная специфика роли нитрических структур в формировании, реализации и контроле генерализации условнорефлекторной реакции страха в условиях стресса новизны.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Результаты исследования, полученные Полиной Вячеславовной Судоргиной, позволяют расширить фундаментальные знания о нейрохимических механизмах стресса новизны и эмоционального стресса. Автором впервые выявлены особенности функциональной роли нитрических структур прилежащего ядра в формировании и реализации, а медиальной префронтальной коры – в контроле генерализации условнорефлекторной реакции страха на стадии ее формирования. Выявленная в работе взаимосвязь уровня секреции оксида азота и степени генерализации условнорефлекторной реакции страха с отставленным (24 часа) угнетением иных форм поведения (на примере исследовательского) указывает на один из механизмов формирования доминанты страха и генеза неврологических постстрессорных расстройств.

Доказанная диссертантом NMDA-зависимая активация nNOS хорошо объясняет феномен ретроградного выделения оксида азота в глутаматергическом синапсе, реализующего влияния по отрицательной обратной связи от пост- к пресинапсу, что регулирует уровень медиации глутамата. Эти результаты имеют несомненное значение для понимания участия NO в «механизмах пластичности» глутаматергического синапса и



угашения условнорефлекторной реакции на страх в отсутствие новизны и подкрепления. Автором впервые доказана важность D2 рецепторов для активации нитрергических нейронов прилежащего ядра и регуляции их ответов на глутамат, опосредованных через NMDA-рецепторы.

Представленные в работе диссертанта результаты по медиальной префронтальной коре существенно дополняют знания о ее функциях и уточняют представления об участии ее нитрергических структур в церебральной системе страха. Функциональная включенность в эту систему и прилежащего ядра, показанная автором, служит важным дополнением в понимание целостных церебральных механизмов реализации такой важной защитной реакции как страх и его отставленных последствий, выраженных в нарушении исследовательского поведения. Автор неоднократно акцентирует внимание на показанной морфологами конвергенции в прилежащем ядре глутаматергических входов от гиппокампа и миндалины и дофаминергических входов от вентральной покрышки среднего мозга. Известные функции этих структур, связанные с пространственной памятью (гиппокамп), тревожностью и эмоциональной памятью (миндалины), двигательными-висцеральными компонентами ориентировочного и болевого рефлексов (вентральная тегментальная область), наряду с полученными автором данными о взаимодействии NMDA, D2 и nNOS в нейронах прилежащего ядра, впервые создают целостную картину функциональной взаимосвязи этих структур в формировании и реализации условного рефлекса на страх.

Полученные в работе результаты представляют интерес не только для теории нейрофизиологических механизмов стресса, но и для клиники соответствующих психопатологий при разработке фармакологической коррекции поведенческих последствий (посттравматических расстройств) острого стресса новизны, который может сопровождаться паническим страхом.



Результаты исследований, включенных в диссертационную работу П. В. Судоргиной, могут быть использованы в курсе лекций «Эндокринология стресса», реализуемом для магистров 2-го года обучения на кафедре общей физиологии биологического факультета Санкт-Петербургского государственного университета.

### **Характеристика содержания диссертационной работы.**

Структура диссертации и её оформление соответствуют требованиям ВАК. Диссертация содержит введение, обзор литературы, материал и методы исследования, результаты собственных исследований, каждый раздел которых имеет собственное обсуждение, а также обширное общее заключение, выводы и список цитируемой литературы. Общий объем работы – 140 страниц печатного текста. Иллюстративный материал представлен 4 таблицами и 33 рисунками. Список литературы включает 43 работы отечественных авторов и 268 зарубежных источников.

Во введении автором сформулированы цель (подразделенная на 3) и 5 задач исследования, определены научная новизна и практическая значимость, изложены основные положения, выносимые на защиту. Научные положения и выводы диссертации вытекают из результатов проведенных исследований и полностью им соответствуют.

Обзор литературы содержит сведения, которые служат обоснованием целей и задач исследования, а также логики дизайна выполненных экспериментов. Объем и новизна анализируемой автором литературы, а также уровень проведенного анализа позволяют рекомендовать обзор диссертационной работы П.В. Судоргиной в печать.

Вторая глава, посвященная дизайну и методам исследования, демонстрирует четкую логику организации исследования, позволяющей решить поставленные задачи. В диссертации применены современные методики, в том числе вживление микродиализных канюль в исследуемые структуры мозга (впечатляет число животных – 122 – и точность



попадания!), методы прижизненного внутримозгового микродиализа и высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией состава диализата, порции которого собирались каждые 5 минут. Кроме того, для исследования роли нитергических структур прилежащего ядра и медиальной префронтальной коры в формировании, реализации и контроле генерализации условнорефлекторной реакции страха у канюлированных крыс в диссертации использованы общепринятые методы выработки условного рефлекса страха и дифференцировки, а для тестирования исследовательского поведения, – метод «Открытого поля». Полученные материалы были подвергнуты адекватной статистической обработке. Репрезентативность выборок и качественная обработка материала, дают основание считать полученные результаты достоверными.

В третьей главе отражены результаты собственных исследований. Они представлены в трех логически взаимосвязанных частях, за каждой из которых следует обсуждение, написанное ясно, доходчиво и глубоко. Оно включает анализ полученных результатов, сопоставление их с данными литературы и обоснование необходимости последующей серии экспериментов. Ввиду большого числа экспериментальных групп и групп контроля такая организация главы 3 представляется вполне уместной и оправданной. В заслугу автора следует поставить разумную осторожность при высказывании предположений, например, о механизмах действия дофамина на нитергические нейроны.

Далее следуют интересно написанное общее заключение, объединяющее анализ результатов по прилежащему ядру и по медиальной префронтальной коре, выводы и список цитированной литературы.

Диссертационная работа П. В. Судоргиной выполнена на высоком методическом уровне. Следует подчеркнуть большой удельный вес, который занимают в работе описания результатов собственных исследований и их обсуждение, а также обширный иллюстративный материал. Все поставленные автором задачи выполнены полностью. Выводы диссертации



основаны на научном анализе результатов исследований. Они соответствуют поставленным задачам и положениям, выносимым на защиту. Все сказанное позволяет рассматривать кандидатскую диссертацию Полины Вячеславовны Судоргиной как авторский завершённый научный труд.

Диссертация оформлена по общепринятым правилам, написана хорошим литературным языком, грамотно, легко и с большим интересом читается. К сожалению, встречаются стилистические недочёты, которые можно отнести к научному «жаргону», например, - «уровень замирания», «удаление рецепторов NMDA из возбужденных нейронов медиальной...коры», но они немногочисленны.

**Автореферат диссертации** полностью отражает основные положения диссертации, содержание и выводы работы.

#### **Внедрение результатов исследования.**

Основные результаты диссертационной работы опубликованы в печати. По теме диссертации вышло в печати 22 работы, из них 5 – в изданиях, включенных в Перечень российских рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК. Результаты исследований представлялись на суд научной общественности на 17 конференциях различного ранга, включая международные (5) и Всероссийские (9).

#### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации.**

Полученные автором результаты исследования могут быть использованы при чтении курса лекций для магистров по «Эндокринологии стресса» в Санкт-Петербургском государственном университете, а также при разработке методов фармакологической коррекции нарушений поведения при синдроме посттравматического стресс-обусловленного расстройства.



### **Вопросы:**

1. Что известно о механизмах активации nNOS дофамином через D1-рецепторы, сопряженные с Gs?
2. Изучали ли вы активацию нитрергической системы исследуемых структур на обстановочные сигналы опасности?
3. Участвуют ли в церебральной системе страха нитрергические нейроны латеральных отделов прилежащего ядра?

### **Заключение.**

Диссертационная работа Судоргиной Полины Вячеславовны на тему «Участие нитрергической системы прилежащего ядра и медиальной префронтальной коры в регуляции последствий формирования условнорефлекторной реакции страха» является законченной научной квалификационной работой. В диссертации представлены новые данные о специфике участия нитрергических структур церебральной системы страха, прилежащего ядра и структур медиальной префронтальной коры, в формировании, реализации и генерализации условнорефлекторной реакции страха, а также в отставленных нарушениях исследовательского поведения, вызванного предшествующим страхом. Автор впервые доказал роль глутаматергических (через NMDA рецепторы) и дофаминергических (с участием D2-рецепторов) синаптических входов в регуляции активности нейрональной NO-синтазы в нейронах прилежащего ядра.

По актуальности темы, методическому уровню, объему полученных результатов, их научно-практической значимости диссертация П. В. Судоргиной «Участие нитрергической системы прилежащего ядра и медиальной префронтальной коры в регуляции последствий формирования условнорефлекторной реакции страха», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук (п. № 9 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК РФ,



утвержденного Постановлением правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г.), а её автор заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

**Официальный оппонент**

Доктор биологических наук, доцент,  
профессор кафедры общей физиологии,  
Федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего  
образования «Санкт-Петербургский  
государственный университет»

199034, Россия, г. Санкт-Петербург,  
Университетская наб., 7/9  
Телефон: 8(812) 3289589  
электронная почта: mp\_chern@mail.ru



Чернышева Марина Павловна

Подпись Чернышевой М.П. удостоверяю.

« 09 » ноября 2016 г.

ЛИЧНУЮ ПОДПИСЬ

*Чернышевой М.П.*  
ЗАВЕРЯЮ

