

Отзыв

официального оппонента на диссертационную работу Судоргиной Полины Вячеславовны «Участие нитрергической 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 работы

Изучение механизмов формирования и развития тревожных расстройств, относящихся к одним из самых распространенных психических расстройств, испытываемых человеком, является чрезвычайно актуальной проблемой современной нейрофизиологии. Спектр тревожных расстройств достаточно велик, их проявления весьма разнообразны. В последние годы особое внимание уделяется детерминантам и причинам возникновения посттравматического стрессового расстройства у участвовавших в боевых действиях военнослужащих. Причиной большинства форм тревожных расстройств является обусловленный страхом (приобретенный страх), в основе формирования которого лежит условнорефлекторный механизм. В отличие от кратковременной тревоги, вызванной переживанием текущих жизненных ситуаций, условнорефлекторные неадекватные реакции страха, возникающие в результате сильных травмирующих воздействий, проявляются в течение длительного времени и могут привести к серьезным последствиям, если оставить их без лечения. Лечение тревожных расстройств нередко бывает затруднительным, и предполагает применение лекарственных средств, имеющих низкую специфичность, а также множество побочных действий, таких как нарушение функций и повреждение различных структур головного мозга. Более полное понимание механизмов формирования страха, возникающее в настоящем исследовании благодаря использованию условнорефлекторного метода в сочетании с методами внутримозгового микродиализа и высокоэффективной жидкостной хроматографии, позволит улучшить методы лечения тревожных расстройств и разработать эффективные меры по их своевременной коррекции.

Проблема нейрофизиологического и нейромедиаторного обеспечения реализации условнорефлекторной реакции страха до настоящего времени

полностью не исследована и продолжает активно изучаться. Важная роль в регуляции эмоций страха принадлежит миндалине, префронтальной коре и гиппокампальной формации. Получены так же данные о непосредственной причастности прилежащего ядра к формированию условнорефлекторной реакции страха.

Научная новизна работы, степень обоснованности и достоверности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации.

Основной целью представленной диссертационной работы является исследование изменений активности нитрергической системы прилежащего ядра и медиальной префронтальной коры в ходе выработки и реализации условнорефлекторной реакции страха, а также изучение вклада дофаминовых D2-рецепторов и рецепторов N-метил-D-аспарагиновой кислоты в эти процессы. Для достижения цели были решены 5 задач, позволивших показать при использовании метода прижизненного внутримозгового микродиализа и высокоэффективной жидкостной хроматографии, что выработка условнорефлекторной реакции страха (сочетание условного звукового сигнала и неизбежного электрокожного раздражения) сопровождается подъемом уровня внеклеточного цитруллина (сопродукта синтеза NO) в прилежащем ядре и медиальной области префронтальной коры. Впервые удалось охарактеризовать динамику изменения активности нитрергической системы в медиальном отделе префронтальной коры на стадии выработки и реализации условнорефлекторной реакции страха. Кроме того, впервые было показано, что во время выработки и реализации условнорефлекторной реакции страха наблюдается активация нитрергической системы медиальной префронтальной коры. Такой подъем почти полностью предотвращался введениями в эту область коры ингибитора нейронной NO синтазы Номега-пропил-L-аргинина (1 мМ) и не наблюдался у животных контрольной группы. Полученные данные впервые свидетельствуют, что формирование условнорефлекторной реакции страха сопровождается активацией нитрергической системы медиальной префронтальной коры, выраженность которой отражает степень последующей генерализации, но не реализации этой условнорефлекторной реакции.

Кроме того, впервые была выявлена активация нитрергической системы прилежащего ядра у контрольных крыс, помещенных в незнакомую экспериментальную камеру. У крыс, у которых за сутки до тестирования был выработан условный рефлекс страха, активность нитрергической системы была

снижена по сравнению с контролем. Было обнаружено также, что у последних интенсивность исследовательского поведения была достоверно ниже, чем у контрольных животных. Впервые установлено, что блокада дофаминовых D2 - рецепторов прилежащего ядра, осуществляемая во время выработки условного рефлекса страха препятствует торможению исследовательского поведения и снижению нитрергической активации у крыс при тестировании через сутки в незнакомой экспериментальной камере.

Характеристика работы. Диссертация П. В. Судоргиной построена по классическому плану и состоит из введения, обзора литературы, методического раздела работы, главы, описывающей полученные результаты и их обсуждения, заключения, выводов, списка сокращений и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 140 страницах машинописного текста и включает 32 рисунка и 4 таблицы.

Во Введении автор обосновывает актуальность темы исследования, анализирует степень разработанности темы в научной литературе, определяет цели и задачи исследования, обосновывает научную новизну, теоретическую и практическую значимость диссертационного исследования. Во Введении также формулируются основные положения, выносимые на защиту, приводятся сведения об апробации работы и внедрении ее результатов. Во введении четко сформулирована цель исследования и задачи исследования, которые полностью соответствуют заявленной цели.

Обзор литературы четко структурирован, и включает в себя 4 раздела. Первый раздел посвящен описанию и особенностям функционирования нитрергической системы мозга. Во втором разделе собраны основные данные, касающиеся функциональной организации префронтальной коры, автор останавливается на имеющихся литературных данных относительно участия медиальной префронтальной коры в формировании поведения, а также дает описание нитрергической системы префронтальной коры. В третьем разделе собраны данные, касающиеся различных отделов стриатума, включая прилежащее ядро. Автор представляет описание NO-ергической системы прилежащего ядра и ее роли в организации поведения. В четвертом разделе дается обоснование актуальности исследования. В этом разделе автор достаточно полно отражает современное состояние проблемы и содержит сведения о существующих исследованиях, посвященных изучению

нейрохимических и структурных механизмов, участвующих в формировании и проявлении страха.

Методические подходы, использованные в работе, современны и адекватны. Описаны достаточно подробно. Методический арсенал достаточно широк и включает в себя проведение анализа нейромедиаторного состава межклеточного пространства отдельных структур мозга и различные поведенческие тесты.

Раздел «Результаты», в котором изложены и интерпретированы основные данные, полученные в ходе исследования, разбит на три главы.

В первой главе с помощью метода прижизненного внутримозгового микродиализа и высокоэффективной жидкостной хроматографии было обнаружено, что введение в медиальную область прилежащего ядра раклопрайда в концентрации 20 мкМ и 100 мкМ не повлияло на изменения уровня внеклеточного цитруллина в этой области мозга. Введение в медиальный отдел прилежащего ядра NMDA (100 мкМ) приводило к подъему уровня внеклеточного цитруллина в этой структуре относительно фонового уровня, наблюдаемому в течение всего периода введения препарата. Влияние NMDA на активность нитрергической системы предотвращалось локальным введением ингибитора NO синтазы 7- нитроиндазола (0.5мМ). Введение раклопрайда (20 и 100 мкМ) в прилежащее ядро значительно снижают вызываемый введениями NMDA подъем уровня внеклеточного цитруллина в этой структуре. Автор делает заключение об участии дофаминергической системы прилежащего ядра и D2 рецепторов дофамина в регуляции активности нитрергической системы этой структуры, вызываемой стимуляцией NMDA рецепторов глутамата.

Во второй главе представлены результаты исследования влияния введения в прилежащее ядро антагониста D2 – рецептора дофамина раклопрайда(10 мкМ) на уровень внеклеточного цитруллина в прилежащем ядре и на формирование, реализацию и угашение условнорефлекторной реакции страха у крыс. Было показано, что первая, вторая и третья реализация условнорефлекторной реакции страха сопровождалась ростом уровня внеклеточного цитруллина в прилежащем ядре относительно фонового уровня. Эти данные подтверждают полученные ранее данные (Саульская и др. 2006) об активации нитрергической системы прилежащего ядра в ходе реализации УРС и ослаблении такой активации при угашении рефлексов. Автор исследует влияние введения раклопрайда в прилежащее ядро на стадии обучения на ориентировочную активность животных

в новой экспериментальной камере. П. В. Судоргина показала, что у контрольных крыс, помещенных в незнакомую экспериментальную камеру, отмечается изменение состояния нитрергической системы прилежащего ядра – повышение ее активности. При этом оказалось, что по сравнению с контролем у крыс, у которых за сутки до тестирования был выработан условный рефлекс страха, активность нитрергической системы прилежащего ядра была снижена. У последних наряду со снижением активности нитрергической системы наблюдается снижение интенсивности исследовательского поведения. Было установлено также, что блокада дофаминовых D2 - рецепторов прилежащего ядра, осуществляемая во время выработки условного рефлекса страха, препятствует торможению исследовательского поведения и снижению нитрергической активации у крыс при тестировании через сутки в незнакомой экспериментальной камере.

В третьей главе раздела «Результаты» представлены данные, характеризующие динамику изменения активности нитрергической системы в медиальном отделе префронтальной коры на стадии выработки и реализации условнорефлекторной реакции страха. Показано, что во время выработки и реализации условнорефлекторной реакции страха наблюдается активация нитрергической системы медиальной префронтальной коры, выраженность которой отражает степень последующей генерализации, но не реализации этой условнорефлекторной реакции.

Результаты работы изложены подробно, хорошо иллюстрированы, статистически обработаны и их достоверность сомнений не вызывает. Обсуждение результатов проведено с использованием современной литературы.

Все данные раздела «Результаты» получены впервые, а научные положения и выводы, выносимые на защиту в представленной диссертационной работе, соответствуют полученным результатам и обоснованы.

Ознакомление с полным цитированием литературы позволяет заключить, что автор хорошо ориентируется в изучаемой им проблеме.

Вопросы и замечания.

При прочтении диссертации возникают следующие замечания и вопросы:

- 1) Не все выражения в диссертации могут быть однозначно интерпретированы или поняты (как это следовало бы из содержания диссертации). Примером таких выражений может быть следующее (стр. 79, «Результаты»): «Исследовательское поведение в новой камере контрольных крыс (группа «контроль+ Раклопрайд», n=7, которые не подвергались в первый день экспериментов действию стресса, но которым вводили раклопрайд за сутки до тестирования, тоже приводило к подъему внеклеточного цитруллина...». Однако, если бы точными, в данном исследовании следовало бы отметить «не вызывает», а сопровождается изменениями в уровне цитруллина. Наблюдаемые изменения, в первую очередь, обусловлены тем, что животное оказалось в новой, незнакомой камере. Поведение в тесте «открытое поле» отражает взаимодействие животного с экспериментальной ситуацией.
- 2) В разделе отсутствует описание параметров «новой камеры», нет обоснования включения в протокол экспериментов данного теста. В этой связи возникает вопрос, насколько обоснован выбор регистрируемых параметров при проведении теста «новая камера». Данный тест завершает сессию тестирования, включающую стадию обучения и угашения условнорефлекторной реакции страха. Практически на всех этапах данной сессии регистрировали реакцию замирания, но по какой-то не совсем понятной причине в тесте «новая камера» перешли на регистрацию параметров ориентировочно-исследовательского поведения.
- 3) Автор не указывает силу звука, предъявляемого животным при формировании и угашении условнорефлекторной реакции страха у крыс.
- 4) Возникает вопрос, как объяснить столь значительные различия в реакции нитрергической системы на условия выработки условнорефлекторной реакции страха и на помещении животного в новую камеру.
- 5) И последний вопрос к диссертанту: что, с Вашей точки зрения, запускает активацию нитрергической системы медиальной префронтальной коры.

Однако приведенные замечания и вопросы не снижают научную значимость и высокую оценку работы.

По материалам диссертации опубликовано 22 работы, из них 5 статей в рецензируемых журналах и 17 в материалах научных мероприятий (тезисы докладов).

Значимость полученных результатов.

Диссертационное исследование П. В. Судоргиной имеет несомненную теоретическую и практическую значимость, т.к. расширяет имеющиеся представления о участии дофаминергической и нитрергической систем прилежащего ядра и префронтальной коры в регуляции сложных форм поведения и возникновении патологических состояний, развивающихся в результате стрессовых воздействий. Важное практическое значение имеют впервые полученные в работе данные об участии дофаминергических D2-рецепторов прилежащего ядра в контроле активности нитрергической системы этой структуры, продемонстрированные как в модельных фармакологических экспериментах, так и в ходе формирования, реализации и угашения условнорефлекторной реакции страха. Данные, полученные в данном диссертационном исследовании, необходимо учитывать при разработке подходов, направленных на коррекцию поведенческих последствий стресса.

Заключение. Учитывая актуальность темы исследования, научную новизну полученных данных, а также их существенную теоретическую и практическую значимость, можно заключить, что диссертационная работа Судоргиной Полины Вячеславовны на тему «Участие нитрергической системы прилежащего ядра и медиальной префронтальной коры в регуляции последствий формирования условнорефлекторной реакции страха», представляет собой самостоятельное, целостное законченное исследование, оформленное в соответствии с требованиями «Положения о порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013 г № 842/пп.0-14/, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01- физиология.

Официальный оппонент Доктор биологических наук профессор кафедры клинической психологии и психологической помощи Российского государственного педагогического университета им. А.И. Герцена

Ватаева Людмила Анатольевна vataeva@yandex.ru +7 921 897 36 32

191186, Санкт-Петербург, наб. реки Мойки, д.48 Телефон: (812) 312-44-92 E mail: mail@herzen.spb.ru Web: http://www.herzen.spb.ru

Подпись Ватаевой Л.А. удостоверяю «08» июля 2016г.

