

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

**Толченниковой Веры Владимировны «Психофизиологические и нейро-
эндокринные эффекты гиппокампэктомии у мышей F1 (C57BL/6 x DBA/2)»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.03.06 – нейробиология**

Гиппокамп – чрезвычайно активно изучаемая мозговая структура. На сегодняшний день в базе данных PubMed по ключевому слову «hippocampus» определяется более 140 тысяч публикаций. Это свидетельствует о той центральной роли, которую играют гиппокамп и связанные с ним структуры в процессах формирования памяти, ориентации в пространстве, нейрогенеза. Одна из последних Нобелевских премий по физиологии и медицине (2014 год) была вручена именно за исследования гиппокампа («открытие нейронов, составляющих систему позиционирования в головном мозге»). В нашей стране классические исследования в данной области проведены под руководством академика П.В. Симонова, д.б.н. Е.Н. Соколова, д.б.н. О.С. Виноградовой.

Несмотря на огромный объем знаний о гиппокампе, многие его функции продолжают дискутироваться и остаются недостаточно изученными. Далеки от однозначной трактовки последствия повреждений палеокортекса (отсюда – представления о гиппокамп-зависимой и гиппокамп-независимой памяти); продолжается исследование распределения функций внутри структур гиппокампа (в частности, в дорзо-вентральном направлении), его взаимодействий с другими нервными центрами, специфика работы отдельных типов нейронов, синаптических контактов и т.д. При этом, наряду с анализом событий, происходящих на молекулярном и клеточном уровнях, сохраняет большое значение оценка вклада гиппокампа в поведение, определение его участия в формировании различного рода навыков, эмоциональных реакций, ответов на стрессогенные, повреждающие, про- и противовоспалительные, нейротрофические и другие факторы.

С учетом сказанного актуальность диссертационной работы В.В. Толченниковой не вызывает сомнений. С одной стороны, ее исследование посвящено оценке последствий повреждения гиппокампа (дорзальная область) при выработке у мышей сложного пищедобывательного навыка; с другой стороны, специальное внимание уделено корреляциям поведенческих данных с результатами оценки гормонального статуса экспериментальных животных.

Как специалист, давно работающий в области физиологии поведения и

нейрофармакологии, могу полностью согласиться с важным моментом, на который обращает внимание соискательница (а также одна из ее научных руководителей д.б.н. К.А. Никольская). Дело в том, что в очень многих современных работах, выполненных в сфере нейронаук, сложные и дорогостоящие молекулярные и клеточные исследования базируются на чрезмерно простых поведенческих моделях. В результате заключения, сделанные на основе анализа, например, процессов формирования элементарных навыков, оказываются плохо применимы к различным проявлениям поведения и психической деятельности человека. Это, в свою очередь, приводит к неудачам при попытке внедрить препараты, производящие (на простых моделях) впечатление улучшения когнитивных процессов, в клиническую практику.

Выход состоит в использовании (несмотря на трудоемкость) более сложных поведенческих парадигм, более детального и скрупулезного анализа реакций экспериментальных животных. Данный подход убедительно реализован в использованном В.В. Толченниковой методе четырехзвенного циклического пище-добывательного рефлекса: грызун входит в сложно организованную зону с двумя подкрепляемыми кормушками, посещает их (берет кусочек еды), выходит в неподкрепляемую часть установки, после чего может вновь войти в подкрепляемую зону и т.д. При этом оказывается возможна оценка конкретных параметров и обобщенных тактик обхода кормушек: их классификация, оптимизация по ходу обучения или при появлении в подкрепляемой зоне дополнительной перегородки, изменение на фоне пищевой депривации, при отмене подкрепления в одной из кормушек и др.

Второй момент, заслуживающий особого упоминания – внимание соискательницы к области нейроэндокринного взаимодействия. В.В. Толченникова значительную часть своего исследования посвятила анализу гормонального статуса экспериментальных животных, определяя под руководством д.б.н. М.В. Кондашевской содержание в сыворотке крови грелина, лептина, нейропептида Y, кортикостерона, тестостерона, тироксинов. При этом получены не только доказательства связи фоновой концентрации гормонов с процессами обучения, но и данные, которые позволяют уверенно (по результатам гиппокампэктомии) говорить о способности гиппокампа регулировать эндокринные процессы, баланс гормонов, во многом определяющих пищевую мотивацию, общий уровень активности, состояние стресса.

Научная новизна исследования определяется, прежде всего комплексным подходом автора к описанию и оценке познавательной деятельности животных в

пределах одного эксперимента. В.В. Толченниковой впервые удалось совместить детальный поведенческий анализ процесса выработки сложного условнорефлекторного навыка с учетом действия таких факторов, как пищевая мотивация, повреждение гиппокампа, эндокринный статус. В результате показано, что гиппокампэктомия до начала обучения нарушает не столько способность к формированию циклического пищедобывательного поведения, сколько направляет ее по упрощенному ассоциативно-обусловленному сценарию: зачастую первый же успешно выполненный маршрут фиксируется нервной системой и становится основой дальнейшего поведения. Это происходит в обход аналитико-синтетической деятельности, характерной для интактных мышей и подразумевающей формирование целостной информационной модели («когнитивной карты») окружающей среды на базе сравнения различных вариантов «решения задачи», в итоге чего реализуется выбор оптимального пути.

Повреждение дорзального гиппокампа внесло также существенные изменения в проявления основных нервных процессов: значимо возрос уровень их неуравновешенности (в сторону преобладания возбуждения). Параллельно соискательницей зафиксировано большое количество признаков снижения эмоциональности в подопытных группах: уменьшение реакций на новизну, практически полное исчезновение проявлений пассивного избегания и др. Эмоциональность (в сравнении с контролем) оказалась сниженной и при изменении пространственных условий среды («тест на перегородку»); в ситуации переделки навыка (отмена подкрепления в одной из кормушек) наблюдался отказ животных с повреждением гиппокампа от деятельности; для них же (в отличие от интактных мышей) показано легкое переключение на возможность многократного подкрепления в пределах одной пробы при изменении структуры задачи (стр. 114-116; до 17 последовательных посещений кормушек).

Важно, что при гиппокампэктомии, проводившейся не до, а после обучения не обнаружено принципиальных нарушений воспроизведения пищедобывательного навыка; параметры периодов высокоорганизованных ответов заметно не менялись, и межгрупповые различия зафиксированы лишь при сравнении периодов дезорганизации («уплощенность психо-эмоционального репертуара»). Данный факт свидетельствует о том, что далеко не все процессы воспроизведения памяти требуют участия палеокортекса (или, по крайней мере, дорзального гиппокампа), что может расцениваться как оригинальный авторский результат, значимый не только в фундаментальном, но и ориентированном на клиническую практику аспекте.

Не меньший научный интерес представляют данные, полученные соискательницей при оценке гормонального статуса экспериментальных животных. Использование иммуноферментного анализа позволило показать, что:

- в интактной группе содержание в крови большинства исследованных гормонов (кроме кортикостерона) чувствительно к пищевой депривации либо к процедуре обучения; реакцию на оба фактора продемонстрировали тестостерон и Т4;
- в гиппокампэктомированной группе общее количество гормонов возросло почти на треть (27%); при этом «ареактивность» проявили кортикостерон и тестостерон, а двойную реактивность – грелин, лептин, нейропептид Y, Т4;
- не обнаруживаются очевидных связей между уровнем определенного гормона и поведенческими феноменами (характеристиками обучения, мотивационных и эмоциональных процессов); для выявления таких связей необходимо рассматривать «гормональные ансамбли», используя кластерный и корреляционный статистический анализ;
- более явные связи фиксируются между «гормональными ансамблями» и основными характеристиками нервной деятельности (такие параметры возбуждения и торможения, как длительность, интенсивность, подвижность) вне зависимости от гиппокампэктомии.

Все полученные результаты представляют большой фундаментальный и практический интерес, хотя в данном случае мы явно имеем дело с ситуацией, когда имеющаяся информация не столько дает ответы на вопросы, сколько позволяет сформулировать цели и задачи будущих исследований в сфере нейроэндокринного (и шире – нейроиммуноэндокринного) взаимодействия. Примерно то же можно сказать и в отношении заключительного вывода соискательницы о том, что «основная роль гиппокампа в познавательной деятельности состоит в обеспечении нейро-гуморальной сопряженности», создающей оптимальные энергетические условия для реализации основных процессов ВНД. Данный вывод, сформулированный в форме гипотезы, прямо указывает на актуальность развития и расширения исследований, базирующихся на уже отмеченном комплексном подходе, включающем анализ сложных форм поведения, воздействия на конкретные нервные структуры (в т.ч. гиппокамп) и оценку эндокринного статуса экспериментальных животных.

Диссертационная работа В.В. Толченниковой изложена на 195 страницах машинописного текста. Во «Введении» автор обосновывает актуальность исследования, формулирует его цель и задачи, научную новизну, теоретическую и научно-практическую значимость, а также положения, выносимые на защиту.

В «Обзоре литературы» (стр. 10-48) охарактеризована история исследований гиппокампа – с точки зрения участия не только в процессах обучения и формирования памяти, но и системной организации поведения. Вторая половина обзора посвящена роли эндокринных факторов в деятельности организма человека и экспериментальных животных; рассматривается разнообразие функций грелина, лептина, нейропептида Y, тиреоидных гормонов, гормонов коры надпочечников – от регуляции общего уровня энергообмена до влияния на высшие психические функции. В обзоре использованы как классические данные, так и публикации самых последних лет, что делает приводимый соискательницей анализ информации интересным и актуальным (в т.ч. – с точки зрения использования в учебном процессе). Завершается обзор литературы рассмотрением роли гиппокампа как регулятора гормональной активности, что позволяет обосновать постановку цели и задач диссертационного исследования.

Раздел «Материалы и методы» занимает 15 страниц и включает детальное описание метода формирования циклического пищедобывательного навыка, характеристику использованных интегральных поведенческих показателей, а также описание гиппокампэктомии, иммуноферментного анализа, статистических методов (в т.ч. – кластерных).

Раздел «Результаты исследования и обсуждение» состоит из двух глав, посвященных поведенческому и нейроэндокринному разделам работы, соответственно. В первой из них детально охарактеризована специфика выработки циклического пищедобывательного навыка у интактных мышей (стр. 64-82) и у животных с повреждением дорзального гиппокампа (стр. 83-123); во второй главе (стр. 124-147) приводятся результаты оценки содержания ряда ключевых гормонов и их сопряженность с особенностями процесса обучения и последствиями гиппокампэктомии. Все данные хорошо проиллюстрированы (49 рисунков и 9 таблиц), адекватно и полно статистически обработаны; сделанные автором выводы обоснованы и не вызывают сомнений.

Обсуждение полученных результатов в основной своей части проводится соискательницей непосредственно после их представления, после чего формулируются задачи следующего подраздела работы, что способствует логической цельности изложения материала диссертации. Окончательное обобщение данных проводится в разделе «Заключение» (стр. 148-156), после чего следуют выводы и список цитируемой литературы (372 источника, в т.ч. 89 на русском языке).

В качестве замечания отмечу, что как диссертационная работа, так и ее

автореферат не свободны от некоторого количества опечаток. В ходе прочтения текста возникли также изложенные ниже вопросы.

По какой причине в заглавии работы использован термин «психофизиологические эффекты гиппокампэктомии», тогда как исследованы, скорее, ее поведенческие эффекты?

Почему автор отдала предпочтение кластерным, а не факторным корреляционным методам анализа полученных в нейроэндокринном разделе работы данных? Были ли сделаны попытки использования факторных корреляционных методов?

Можно ли, помимо весьма сложно поддающихся физиологической трактовке реакций «гормональных ансамблей», выделить более простые варианты ответов на голод и гиппокампэктомию отдельных исследованных гормонов? Обнаружены ли такие связи в случае основных свойств ВНД?

Если столь большое внимание в работе уделяется способности гиппокампа воздействовать на концентрацию ряда гормонов, то почему не обсуждаются механизмы таких воздействия (например, опосредованные через гипоталамус)?

Все перечисленное выше ни в коей мере не снижает безусловно положительного впечатления от рассматриваемой работы. В целом представленные в диссертационном исследовании результаты еще раз подтверждают высокие прогностические возможности системно-информационного подхода (выработка циклических пищедобывательных рефлексов) для выявления дефектов в когнитивной сфере экспериментальных животных, что обуславливает перспективность применения соответствующего комплекса методов в доклиническом тестировании лекарственных препаратов.

Материалы работы в достаточном количестве опубликованы в рецензируемых научных изданиях из списка ВАК; соискательницей представлен ряд докладов на отечественных и международных физиологических конференциях. Автореферат диссертационной работы в достаточно полной мере отражает ее основное содержание.

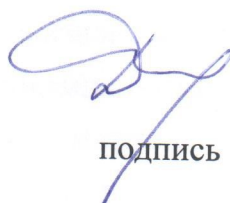
На основании вышеизложенного можно однозначно заключить, что представленное В.В. Толченниковой исследование на тему «Психофизиологические и нейроэндокринные эффекты гиппокампэктомии у мышей F1 (C57BL/6 x DBA/2)» по актуальности проблемы, методическому уровню, объему полученных результатов, их новизне, достоверности и значимости является полноценным научно-исследовательским трудом, выполненным автором самостоятельно на высоком уровне, а также отвечает всем критериям пункта 2 «Положения о

присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова», предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Толченникова Вера Владимировна, безусловно заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.06 – нейробиология (по биологическим наукам).

Официальный оппонент:

доктор биологических наук,
профессор кафедры физиологии человека и животных
биологического факультета Московского государственного
университета имени М.В. Ломоносова

Дубынин Вячеслав Альбертович



ПОДПИСЬ

20.03.2018

ЧИСЛО

Контактные сведения:

тел. +7-926-1448611, e-мейл: dva-msu@yandex.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:
03.00.13 – физиология

Адрес места работы: 119234, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12,
тел. +7-495-9392895, e-мейл: dva-msu@yandex.ru



В.А.