

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Толченниковой Веры Владимировны
на тему: «Психофизиологические и нейроэндокринные эффекты
гиппокампэктомии у мышей F1(C57BL/6xDBA/2)»
по специальности 03.03.06 – «Нейробиология»

Исследование гиппокампа в экспериментальной нейробиологии имеет давнюю историю, богатую замечательными открытиями свойств и закономерностей функционирования не только этой структуры, но и мозга в целом. Представление о функции гиппокампа человека и животных в разные периоды его изучения изменялось кардинальным образом, и в настоящее время продолжают дискуссии о его роли в когнитивной деятельности человека и животных. Плодотворным подходом для обобщения многочисленных экспериментальных фактов, которые были получены за несколько десятилетий исследования гиппокампа, остается анализ поведенческих изменений после локальных нарушений мозга. По этой причине работа, представленная Толченниковой Верой Владимировной на тему «Психофизиологические и нейроэндокринные эффекты гиппокампэктомии у мышей F1(C57BL/6xDBA/2)», представляет значительный интерес, так как направлена на углубленный анализ поведения мышей после повреждения гиппокампа, уточнение его функциональной роли. Актуальность и практическая значимость исследования определяется неоспоримым фактом вовлечения гиппокампа в механизмы многих нейропатологий, необходимость в терапии которых значительно увеличивается по мере старения населения.

Во введении к работе диссертант справедливо отмечает, что в последние десятилетия интенсивно развиваются молекулярно-генетические и нейрофизиологические высокотехнологические методы экспериментальной нейробиологии, но внимания методам оценки поведения уделяется

недостаточно. В диссертации В.В. Толченниковой ставится цель изучить психофизиологические и нейроэндокринные особенности познавательной деятельности в норме и при электрокоагуляции дорсального гиппокампа в условиях свободного выбора в многоальтернативной среде у мышей F1 (C57BL/6×DBA/2). Диссертация включает в себя следующие разделы: Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты и обсуждение, Заключение, Выводы, Список цитируемой литературы (371 источник). Работа изложена на 195 страницах, содержит 40 рисунков и 8 таблиц.

Обзор литературы содержит три основных раздела: «Гиппокамп и поведение: экспериментальные данные», «Гуморальные факторы в интегративной деятельности организма», «Гиппокамп как регулятор гормональной активности». В первом разделе обзора приведены и проанализированы многочисленные клинические данные и экспериментальные исследования, которые выявили участие гиппокампа практически во всех проявлениях жизнедеятельности организма; особое внимание уделено экспериментальным работам с повреждением этой структуры. На протяжении всего обзора подчеркивается неоднозначность и противоречивость интерпретации полученных данных. Так, например, отмечается, что наиболее характерными особенностями поведения животных при гиппокампэктомии оказались повышение общей двигательной активности, усиление ориентировочных реакций, трудности угашения навыков, появление двигательных персевераций, снижение уровня страха. Однако существуют работы, оспаривающие некоторые из этих особенностей, например, изменение общей локомоторной активности и снижение количества оборонительных проявлений (Deacon, Croucher, Rawlins, 2002). После этого раздела в диссертации обобщаются системные эффекты гиппокампэктомии, которые следуют из литературных источников: 1) нарушение ориентировочного рефлекса; 2) снижение отвлекающего действия экстрараздражителя; 3) трудности с переключением внимания; 4) нарушение

тонкости дифференцировки при добавлении лишних объектов; 5) снижение пластичности поведения за счет замедления угашения; 6) изменение отношения к подкреплению; 7) невозможность выработки условных в рефлексов в условиях низкой вероятности подкрепления; 8) нарушение общего фактора памяти.

При написании Обзора литературы перед диссертантом стояла сложная задача: из огромного числа публикаций по этому вопросу выделить наиболее существенные, позволяющие представить сложную картину противоречивых мнений о функции гиппокампа. В целом, В.В. Толченникова справилась с этой задачей. Однако, определяя функцию гиппокампа, недостаточно анализировать экспериментальные работы лишь с повреждением этой структуры мозга. К настоящему времени в экспериментальной нейробиологии широко применяются неинвазивные методы, позволяющие получать данные о динамике работе мозга в норме и при патологиях; а эти работы не получили должного внимания диссертанта. Кроме того, в обзоре диссертант не анализирует различия результатов, полученных при различных способах повреждения гиппокампа (нейротоксическое, хирургическое), как и особенности дефектов дорсальной и вентральной части и отдельных полей гиппокампа (CA1, CA3, ЗФ).

В разделе «Гуморальные факторы в интегративной деятельности организма», реализуется подход к рассмотрению зависимости функций мозга от гормонального уровня, причем рассматривается ансамбль гормонов, а не их индивидуальных представителей. Сделан вывод, с которым трудно не согласиться: гуморальные факторы вне зависимости от своей природы обладают множественными механизмами и способами влияния на организм, проявляющимся как на уровне физиологических процессов, так и затрагивающих высшие психические функции. Подчеркивается, что контроль взаимодействия внутри мультигормональных ансамблей производится на различных уровнях организации ЦНС от промежуточного мозга до высших отделов неокортекса. Однако, такой подход неимоверно усложняет задачу

исследователя при раскрытии клеточных механизмов гормонального влияния на мозг. Возникает необходимость интегрировать влияние многих гормонов, каждый из которых обладает индивидуальными особенностями проникновения гормонов через ГЭБ в зависимости от состояния организма. Кроме того, известно, что функция некоторых гормонов может значительно различаться на периферии и в мозге. С такими же трудностями диссертант сталкивается в следующем разделе Обзора литературы, в котором гиппокамп рассматривается как регулятор гормональной активности. Как показали клинические исследования, удаление гиппокампа приводит к нарушению чувствительности в отношении таких интероцептивных сигналов, как голод, жажда, усталость, боль (Hebben et al., 1985). Наличие в гиппокампе рецепторов к широкому спектру гуморальных факторов, контролирующих практически все вегетативные функции, от пищеварительной и кровеносной до иммунной, привели к возникновению гипотезы Лате о функции гиппокампа как о нейроэндокринном органе, сканирующем гормональный статус организма и параметры интероцептивных сигналов (Lathe, 2001). Эта точка зрения получила развитие в представлении Т. Девидсона о гиппокампе как о структуре мозга, преобразующей изменение интероцептивных сигналов в поведенческие программы, которые могут использоваться животным в будущем. Понимая, что подобные точки зрения базируются на обширном экспериментальном и клиническом материале, трудно разделить их полностью, особенно если иметь в виду исторически сложившуюся ситуацию приписывания гиппокампаму такого числа функций, что возникает вопрос о необходимости самого существования других областей мозга.

В заключение Обзора литературы диссертант подводит итоги экспериментальных работ, критически оценивая те работы, где общая картина выводится из совокупности разрозненных фактов. Подчеркивается, что молекулярно-генетические, физиологические характеристики при любом уровне точности могут являться не более чем коррелятами того или иного процесса (например, памяти), в качестве необходимого и достаточного

критерия истины может выступать только поведение как функциональный интеграл живой системы.

Далее в диссертации «Психофизиологические и нейроэндокринные эффекты гиппокампэктомии у мышей F1(C57BL/6xDBA/2)» с достаточной полнотой описаны материалы и методы, примененные в работе. Основным достоинством поведенческих методов необходимо признать разносторонний и глубокий анализ поведения животных с применением оригинальной методики обучения животных, разработанной К.А. Никольской. Согласно этой методике в результате обучения животные при свободном выборе должны были сформировать четырехзвенный условный рефлекс в циклической форме: вход в пищевую среду-достижение кормушки 1, затем кормушки 2- выход из пищевой среды. В этом разделе приведены критерии, на основании которых делаются заключения о психофизиологическом и эмоциональном состоянии животных, об их когнитивных способностях. Затем описаны методы оценки различных гормонов в крови животных в разных экспериментальных ситуациях.

Раздел диссертации Толченниковой В.В. «Результаты исследования и обсуждение» содержит две больших главы. В первой дана психофизиологическая характеристика познавательной деятельности мышей F1 (C57BL/6×DBA/2) в норме и при гиппокампэктомии. Сначала дается подробная психофизиологическая характеристика поведения интактных мышей при обучении. Показано, что динамика общих показателей обучения, таких как количество проб, характер подкрепления, возрастание ошибок и их последующее снижение, а также двигательной активности, скорости перемещения, длины непрерывного пробега, времени и длины пробы, доли безусловных реакций, изменялись в процессе обучения согласованно по единому экспоненциальному закону. Принципиальной особенностью поведения интактных животных было последовательное увеличение результативности по мере накопления опыта: промежуточные результаты познавательного процесса использовались по ходу обучения, что приводило к

приращению условнорефлекторной эффективности. Наблюдение за животными дало возможность выделить 18 различных безусловных реакций, объединенных в 7 классов. Начальный этап обучения мышей характеризовался неуравновешенностью основных нервных процессов в сторону преобладания возбуждения, и, несмотря на сложность проблемной ситуации, мыши смогли сформировать четырехзвенный навык в циклической форме. Далее в работе приведены результаты, полученные на мышах с поврежденным гиппокампом. Оказалось, что, несмотря на повреждение мозга, животные, как и интактные мыши, смогли достичь конечного результата, т.е. сформировать четырехзвенный пищедобывательный навык в циклической форме. Тем не менее, на разных этапах экспериментов были выявлены отличия в поведении контрольных и экспериментальных животных. Так, несмотря на то, что исследовательская активность у мышей с поврежденным гиппокампом развивалась по сходному с контролем экспоненциальному принципу, динамика угасательной активности (угашение неподкреплением) и поведенческая эффективность соответствовали накопительному принципу (рис.1.9, Б). Гиппокампэктомия привела к тому, что результаты исследовательской деятельности не использовались мышами для увеличения условнорефлекторной эффективности и организованности поведения, для увеличения вероятности успеха и снижения числа ошибок. Принципиальная особенность условнорефлекторного поведения оперированных мышей состояла в быстром установлении целенаправленности, для реализации которой использовались любые равновозможные маршрутные варианты. Далее диссертант исследовал сохранность выработанного навыка у гиппокампэктомированных мышей, зависимость его воспроизведения от уровня голода, а также при изменении конфигурации лабиринта. Использование дополнительных тестов позволило выявить, что интактные и оперированные мыши реагировали как на изменение внутреннего состояния (сытость-голод), так и на неожиданные

внешние воздействия (появление перегородок). При этом во всех случаях изменения носили адекватный ответ в соответствии с новыми условиями.

Подводя итоги этой части работы, в диссертации указывается, что гиппокампэктомия не сказалась ни на способности животных к формированию навыка, ни на сохранности ранее выработанного навыка. При этом стратегия обучения оказалась сходной с контролем – достижение максимума подкрепления при минимуме действия. При обсуждении этих результатов диссертант замечает, что способность обучаться после повреждения гиппокампа и сохранять сформированный навык после операции не вполне согласуются с большинством литературных источников, согласно которым идея о существенной роли в процессах фиксации и консолидации информации считается убедительно доказанной. Рассматривая это противоречие, автор отмечает, что для многих исследователей факт непроявления памятного следа является достаточным аргументом считать, что следа памяти не существует. И отсутствие реакции замирания в оборонительных моделях (Maren et al., 1997; Wiltgen et al., 2006 и многое другие работы), увеличение ошибок в многолучевом лабиринте (Maviel et al., 2004) рассматриваются в качестве решающих аргументов в пользу нарушения функции запоминания, хотя в основе ухудшения воспроизведения могут лежать неспецифические дефекты, обусловленные любой психической деятельностью мозга. Кроме того, в основе наблюдаемого «ухудшения» памяти часто лежит нарушение процесса воспроизведения, обусловленного недостаточным уровнем мотивационной активности, необходимой для активации и удержания следа памяти на надпороговом уровне.

Признавая глубину поведенческого анализа, выполненного в диссертации, трудно согласиться с основным выводом об отсутствии нарушений памяти у гиппокампэктомизированных мышей. В работе были выявлены явные дефекты в динамике формирования навыка, его экспериментальном угашении неподкреплением. Следует учесть, что выбранная экспериментальная модель не может охватывать все ситуации, где

важна потребность в гиппокампальной функции. Кроме того, судя по морфологическому контролю, у мышей была разрушена часть дорсального гиппокампа, в основном, затрагивающая область CA1, но не CA3. Объем и место повреждения гиппокампа имеет большое значение для степени нарушения когнитивной деятельности (Broadbent et al., 2004).

Глава II «Нейроэндокринные эффекты поведения мышей F1 (C57BL/6×DBA/2) в норме и при гиппокампэктомии» посвящена результатам анализа реакции гормонов в крови животных в разных состояниях и в условиях когнитивной нагрузки. У гиппокампэктомированных, как и у интактных животных, изменение внутреннего состояния (сытость-голод) внесло существенные изменения в уровень гормонов в крови. Уровень большинства исследуемых гормонов – грелина, лептина, нейропептида Y, T3 и T4 было изменялось в голодном состоянии, в то время как уровень тестостерона и кортикостерона не изменялся ($p > 0.05$). Однако, если у контрольных мышей чувствительность в отношении информационной нагрузки проявили грелин, T4 и тестостерон, то у гиппокампэктомированных – грелин, лептин нейропептид Y и T4.

Корреляционный анализ, проведенный в диссертационной работе, выявил некоторые связи между поведением и содержанием гормонов в крови. Так, извлечение следа памяти коррелировало с нейропептидом Y и тестостероном. Наиболее уязвимый этап процесса воспроизведения для гиппокампэктомированных животных – кратковременное удержание в оперативном режиме (способностью дважды повторить оптимальный вариант) – коррелировал практически со всеми исследуемыми гормонами, наиболее значимо с лептином, NPY, T3 и кортикостероном (табл. 2.4). Гиппокампэктомия внесла серьезные изменения в характер ответа гормонов, для большинства которых повысился не только базовый уровень содержания в крови, но и амплитуда ответа на изменение функционального состояния. Из полученных результатов сделан вывод, что «роль гиппокампа может состоять в организации мультигормональной активности за счет влияния на

характер и величину ответа отдельных гормонов в рамках конкретного ансамбля, для обеспечения сопряженности нейрогормонального баланса с психо-физиологическими требованиями».

Оценивая в целом диссертацию, следует признать, что В.В. Толченникова проделала большую экспериментальную работу на актуальную тему, сделав определенный вклад в понимание функциональной роли гиппокампа в условиях пищедобывательного навыка у мышей. Несомненным достоинством диссертации является демонстрация возможностей поведенческого анализа, глубокая характеристика психофизиологического состояния животных при выработке пищедобывательного навыка. Интерпретация полученных результатов и выводы, к которым пришел автор, в большинстве случаев вполне обоснованны и логичны, хотя иногда выглядят излишне категоричными. Многочисленные данные, накопленные в экспериментальной нейробиологии относительно роли гиппокампа, побудили неоднократные попытки сформулировать гипотезы, которые могли бы объединить экспериментальные факты, примирить различные теории. Однако, консенсус пока не найден и такие попытки продолжаются.

Диссертация В.В. Толченниковой «Психофизиологические и нейроэндокринные эффекты гиппокампэктомии у мышей F1(C57BL/6xDBA/2)» хорошо оформлена, графическое отображение результатов дает представление о различиях между группами животных. В работе получен ряд новых данных, а обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, не вызывает сомнения. Содержание автореферата полностью соответствует диссертации.

Недочетов и текстовых ошибок немного. Например, в оглавлении заголовков Гл.1 Часть 1 (Психофизиологическая характеристика поведения деятельности...); стр. 33 (супрахиазматические ядра); Стр. 109 (Столкновение контроля с перегородкой...); с. 113 (гипотермия с 31.1 ± 0.4 до 19.8 ± 1.7 C) и др. В списке литературы неверно указан год для ссылки 129; ссылки 361 и 362 тождественны.

Указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 03.03.06 – «Нейробиология» (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена, согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Толченникова В.В. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.06 – «Нейробиология».

Официальный оппонент:

доктор биологических наук,

г.н.с. Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН

Архипов Владимир Иванович

Архипов

12.03.2018

Контактные данные:

тел.: 7(4967)739395, e-mail: viarkhipov@rambler.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена

диссертация: 03.03.01 Физиология.

Адрес места работы: 142290 Московская обл., г. Пущино, Институтская, 3,

ИТЭБ РАН

Подпись сотрудника Архипова В.И.

ИТЭБ РАН удостоверяю:



Владимир Иванович Архипов
Эксперт (Э.И. Архипов)