



«УТВЕРЖДАЮ»,
Директор
Института эволюционной физиологии и
биохимии им. И.М. Сеченова Российской
академии наук (ИЭФБ РАН), д.б.н.

Фирсов М.Л.



2022 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук (ИЭФБ РАН) на диссертационную работу Журавлевой Зои Дмитриевны «Роль глицинэргической передачи медиальной преоптической области гипоталамуса в регуляции различных видов поведения самцов крыс», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук в диссертационный совет Д 24.2.340.06 при Нижегородском государственном университете им. Н.И. Лобачевского по специальности: 1.5.5 – физиология человека и животных.

Актуальность темы

Исследование молекулярных механизмов работы ЦНС, в том числе изучение особенностей медиаторной передачи в нейрональных сетях гипоталамуса, обеспечивающего интеграцию информации, поступающей как от лимбической системы и коры больших полушарий, так и от нижележащих отделов мозга, остается важной проблемой нейрофизиологии. Вклад глицинэргической системы в нейронных сетях переднего мозга остается недостаточно изученным, поэтому тема данной работы является актуальной.

Научная новизна

Из наиболее важных достижений данной работы можно отметить сравнительный анализ полового поведения у двух стоков лабораторных крыс - Sprague Dawley и Wistar, наиболее часто используемых исследователями; новые наблюдения о влиянии активации и ингибирования глицинэргической системы в нейрональных сетях медиальной преоптической области (МПО) гипоталамуса в регуляции полового и зоосоциального поведения в тесте Кроули, а также в регуляции двигательной активности и тревожности.

Степень обоснованности и достоверность научных положений, выводов, сформулированных в диссертации

Выносимые на защиту положения и выводы базируются на анализе совокупности полученных данных, лаконично сформулированы, конкретны. Они весомы, обоснованы собственными, в ряде случаев уникальными, материалами, полученными с помощью комплекса современных физиологических методов исследований: электрофизиологической регистрацией параметров активности вибродиссоциированных нейронов МПО методом перфорированного патч-клампа, регистрацией характеристик

полового поведения, социального взаимодействия и тревожности у крыс в контроле и при билатеральном введении в мозг глицина и стрихнина. Корректное использование данных методик позволило автору собрать достаточный объем материала для дальнейшего проведения адекватного математического и статистического анализа полученных данных.

Теоретическая и практическая значимость

В целом, полученные автором диссертации собственные данные являются убедительными, приоритетными, носят фундаментальный характер, расширяют современные представления о роли глицинергической системы в нейронных сетях переднего мозга. Практическая значимость связана с новыми фактами о межстоковых различиях в поведении крыс и их различной чувствительности к действию агонистов и антагонистов глицинергической передачи. При проведении доклинических исследований новых лекарственных препаратов следует учитывать выявленный механизм различия при выборе модельного стока крыс для исследования полового поведения в эксперименте.

Соответствие представленной работы специальности

Диссертационная работа Журавлевой Зои Дмитриевны «Роль глицинэргической передачи медиальной преоптической области гипоталамуса в регуляции различных видов поведения самцов крыс», полностью соответствует научной специальности 1.5.5 – физиология человека и животных.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 16 работ, из них 4 статьи в рецензируемых журналах, входящих в перечень ВАК, 12 тезисов в сборниках всероссийских и международных конференций.

Общая характеристика работы

Диссертация изложена на 148 страницах; состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов исследования и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы, содержащего 122 источника; иллюстрирована 53 рисунками. Рисунки (схемы и графики) в целом информативны, качественно выполнены, что демонстрируют достоверность полученных данных и профессиональное мастерство автора.

Во введении имеется вполне обоснованная и хорошо аргументированная постановка задачи исследования, приведена общая характеристика работы.

Литературный обзор заслуживает в целом высокой оценки. Он хорошо написан, основан на анализе современной научной литературы и в достаточной степени знакомит читателя с основными вопросами, касающимися роли МПО гипоталамуса в регуляции полового и социального поведения, в регуляции тревожности. Дается общая характеристика нейромедиаторов и их рецепторов в МПО гипоталамуса, участвующих в регуляции различных форм поведения, отдельно описываются глициновые рецепторы.

В качестве *замечаний* по литературному обзору отмечу следующие моменты:

- 1) не хватает иллюстративного материала. Например, при описании связей между различными отделами, связанных с обработкой сенсорной информации, регуляцией полового поведения и т.п. визуализация этих связей на схемах или рисунках была бы очень полезна.
- 2) Описание нейромедиаторов МПО гипоталамуса, участвующих в регуляции некоторых форм поведения дается без должной систематизации и представляет собой скорее набор различных эмпирических наблюдений о роли тех или иных агонистов на поведение.

Материалы и методы исследования. Следует особо отметить, что в работе применялся большой спектр методов, включая довольно сложные и трудоемкие для исследователя, например эксперименты с вживлением канюль в область МПО билатерально и введение препаратов. Выбранный набор методов полностью согласуется с поставленными задачами, что подтверждает квалификацию соискателя ученой степени.

Однако при описании некоторых методов ключевые детали были упущены из рассмотрения, что затрудняет восприятие и оценку качества результатов. Например, при описании патч-кламп регистраций *нет данных о возрасте использованных животных*. Возможность получения жизнеспособных изолированных нейронов с помощью метода вибродиссоциации возможна только до определенного возраста. В диссертации указан вес (60–100 г) крыс, который косвенно позволяет оценить возраст животных, однако у разных стокс крыс и в разных условиях скорость набора веса различается довольно сильно, поэтому желательно привести и возраст животных.

Не приводятся объяснения, почему вместо традиционного варианта патч-клампа была использована модификация с перфорированным патч-клампом. Это более сложный вариант патча, какие преимущества были получены? Почему был выбран амфотерицин в качестве агента для перфорации клеточной мембраны?

Состав используемых растворов содержит ошибки, например, из прописи внутриклеточного раствора не понятно, на основе чего он сделан, так как основной компонент почему-то не указан (3 mM NaCl, 1,2 mM MgCl₂*6H₂O, 10 mM HEPES, 1 mM EGTA, 140 mM ???).

In vivo эксперименты: нет информации о том, с какой скоростью вводили через канюли стрихнин и глицин, в каких условиях проводили введение, через какое время начинали эксперименты, сколько времени продолжались

Результаты и обсуждение. Результаты в целом хорошо документированы, грамотно обработаны, статистически проанализированы и четко изложены. Они кратко комментируются по ходу описания материала, что позволяет отследить в целом всю логику проведенного исследования. Обсуждение результатов после каждого блока результатов проведено на хорошем профессиональном уровне. Это показывает, что диссертант отлично владеет материалом и может трактовать свои результаты в контексте современных представлений. Экспериментальная работа выполнена в полном соответствии с поставленными задачами и никаких принципиальных возражений не вызывает. Однако при прочтении этой главы появились некоторые вопросы и комментарии:

1. С помощью патч-кламп регистрации на вибродиссоциированных нейронах МПО гипоталамуса был проведен анализ действия растворов, содержащих ГАМК в сочетании с различной концентрацией стрихнина. Логика этой части работы неочевидна, так как стрихнин в используемых концентрациях не влияет на ГАМК-рецепторы и проверка его селективности не требуется. В то же время демонстрация наличия глицин-зависимых токов, подавляемых применением стрихнина, была бы очень желательна в данной работе, так как напрямую продемонстрировало бы наличие глициновых рецепторов на целевых нейронах МПО. Если такие эксперименты проводились, то желательно продемонстрировать примеры токовых ответов нейронов на глицин на защите.
2. С чем, по мнению автора, связана такая сильная дозозависимость действия стрихнина? Показана блокада ГАМК-токов на 70-80% при использовании концентрации 50 μM и полное отсутствие эффекта при уменьшении концентрации стрихнина всего в 2.5 раза до 20 μM .
3. В работе приводятся только итоговые статистические диаграммы, но нет примеров экспериментальных записей. Примеры записей токов в нейронах на действие агонистов/антагонистов или примеры треков в поведенческих экспериментах (пробежки в тесте Открытое поле) существенно бы украсили работу и дали представление о качестве экспериментальных данных.
4. Статистическая обработка данных описана очень кратко и поэтому не всегда очевидно, насколько правильно она сделана. В большинстве случаев не указано, сколько именно измерений было проведено в том или ином конкретном эксперименте, какой именно статистический тест использовался, каково его значение. При наличии относительно небольшого числа измерений рекомендуется приводить на диаграммах индивидуальные значения, что позволит оценить разброс показателей.

В заключении кратко приводятся основные этапы и результаты исследовательской работы. Выводы диссертационного исследования логически вытекают из изложенных результатов, соответствуют поставленным в работе цели и задачам.

Автореферат полностью отражает содержание диссертационной работы.

Заключение:

По объему выполненной работы, актуальности, научной новизне основных положений, целостности, законченности, практической значимости и публикациям диссертационная работа Журавлевой Зои Дмитриевны «Роль глицинэргической передачи медиальной преоптической области гипоталамуса в регуляции различных видов поведения самцов крыс» соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 – физиология человека и животных.

Диссертация Журавлевой Зои Дмитриевны «Роль глицинэргической передачи медиальной преоптической области гипоталамуса в регуляции различных видов

поведения самцов крыс» обсуждена на заседании лаборатории №9 молекулярных механизмов нейронных взаимодействий (протокол 2 от «23» мая 2022 года).

Главный научный сотрудник
лаборатории молекулярных механизмов
нейронных взаимодействий
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки Институт
эволюционной физиологии и биохимии
им. И.М. Сеченова Российской академии
наук (ИЭФБ РАН)

доктор биологических наук

(подпись заверяется уполномоченным
представителем организации)

Зайцев Алексей Васильевич



Подпись руки
подтверждаю
канцелярией

Зайцева А В
И.Р. (Симова И.Д.)

Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института эволюционной
физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова
Российской академии наук

24.05.2022

Федеральное государственное
бюджетное учреждение науки Институт
эволюционной физиологии и биохимии
им. И.М. Сеченова Российской академии
наук (ИЭФБ РАН)

194223, Россия, г. Санкт-Петербург,
пр. Тореза, д. 44
Тел.: (812) 552-79-01
E-mail: aleksey_zaitsev@mail.ru