

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук Тюльковой Екатерины Иосифовны на диссертацию Брошевицкой Надежды Дмитриевны на тему: «Влияние раннего провоспалительного стресса на тревожно-депрессивное, социальное и оборонительное поведение крыс разного пола», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. –«Физиология человека и животных».

Диссертационная работа Н.Д. Брошевицкой посвящена одной из фундаментальных проблем биологии и медицины – исследованию повреждающих воздействий в раннем онтогенезе на отдаленные их последствия с точки зрения механизмов развития различных патологических состояний. Представленная работа представляет собой самостоятельно выполненное, обладающее новизной, теоретическим и прикладным значением исследование, посвященное изучению влияния провоспалительного стресса в период раннего постнатального онтогенеза на различные аспекты поведения взрослых животных.

**Актуальность работы.** Диссертационная работа Брошевицкой Надежды Дмитриевны на тему: «Влияние раннего провоспалительного стресса на тревожно-депрессивное, социальное и оборонительное поведение крыс разного пола» посвящена изучению отдаленных последствий раннего провоспалительного стресса (введение липополисахарида (ЛПС) на 3 и 5-е сутки постнатального развития крыс) на различные формы поведения, отражающие изменения уровня тревожности, склонности к депрессивным состояниям, оборонительное и социальное поведение у взрослых животных. Эта работа является актуальной, поскольку внешние и внутренние воздействия в раннем онтогенезе могут изменить «программу» развития мозга в раннем возрасте и привести к повышенному риску развития различных возраст обусловленных заболеваний, в том числе нейродегенеративных. Как известно из литературы, модель нейровоспаления при введении ЛПС приводит к развитию тревожных и посттравматических стрессовых расстройств, проявляющиеся в патологической тревожности, фобиях и трудно угасимом страхе. Разработка методов диагностики и лечения последствий нейровоспаления у младенцев является первостепенной задачей для большинства клиницистов, работающих в этой области. Исследования механизмов, лежащих в основе нарушений поведения и способности к обучению, возникающих в результате действия повреждающих воздействий в различные периоды перинатального онтогенеза невозможны без использования модельных экспериментов на животных, которые могут воспроизводить развитие мозга человека. Такие исследования могут охватывать весь жизненный цикл – от перинатального онтогенеза до старости.

Изучение изменений поведенческих характеристик взрослых крыс, процессов выработки и угашения различных оборонительных рефлексов, социального поведения после введения ЛПС в неонатальном возрасте является важной составляющей проведенного комплексного исследования и отражают функциональное состояние мозга экспериментальных животных.

Основываясь на данных литературы Н.Д. Брошевицкая поставила целью своей работы изучить влияние раннего провоспалительного стресса на тревожно-депрессивное и социальное поведение, а также различные оборонительные условные рефлексы и нейроэндокринную реактивность у взрослых крыс разного пола. Цель сформулирована четко и понятно. В соответствии с поставленной целью поставлено 7 задач, каждая из которых относится к целостному фрагменту исследования.

**Научная новизна.** С использованием моделей условного рефлекса пассивного избегания и классического оборонительного условного рефлекса в работе Н.Д. Брошевицкой показано, что провоспалительный стресс в раннем онтогенезе приводит к нарушению угашения реакций условнорефлекторного страха у взрослых животных, увеличению внутривидовой агрессии, социального доминирования и социального взаимодействия у самцов крыс, но не самок. Впервые показанная корреляция изменения социального поведения взрослых животных с повышенным уровнем ИЛ-1бета в крови, что может говорить о воспалительной природе социального доминирования у особей переживших различные заболевания в раннем онтогенезе, особенно у самцов.

**Теоретическая и практическая значимость** работы определяется полученными фундаментальными сведениями об особенностях поведения взрослых животных разного пола вследствие пережитого в раннем онтогенезе нейровоспаления, а также участие в этих процессах условий содержания (обогащённая среда или социальная изоляция). Полученные данные способствуют пониманию происхождения ряда заболеваний, таких как тревожно-депрессивные расстройства и посттравматические стрессовые расстройства, для которых характерны высокие уровни тревожности, страха и агрессии. Результаты о влиянии содержания в условиях обогащенной среды могут иметь практическое применение для коррекции нарушений развития мозга после негативных воздействий в раннем постнатальном периоде.

**Достоверность и обоснованность положений и выводов диссертации.** Экспериментальные данные, приведенные в диссертации Н.Д. Брошевицкой, получены на достаточном экспериментальном материале (244 экспериментальных животных), адекватными методами исследования, грамотно статистически обработаны с

использованием сертифицированных статистических программ. На основании полученных данных сделано 6 выводов. При детальном знакомстве с рукописью достоверность представленных в работе материалов не вызывает сомнений.

Основные положения диссертации нашли отражение в 6 статьях, опубликованных в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ.

### **Структура и содержание работы.**

Диссертационная работа Н.Д. Брошевицкой построена по традиционному плану. Объем рукописи составляет 192 страницы, она проиллюстрирована 34 рисунками и 9 таблицами. Список литературы включает 268 источников, в том числе 22 - русских и 246 - иностранных.

Во введении обосновывается актуальность выбранного направления исследования, формулируются цель и задачи исследования, а также положения, выносимые на защиту, новизна полученных экспериментальных данных, их теоретическое и практическое значение, приводятся сведения о методах и степени достоверности результатов. Этот раздел выглядит компактным и информативным, соответствует требованиям, предъявляемым ВАК к оформлению диссертаций.

Далее следуют главы, содержащие литературный обзор, описание материалов и методов, 5 глав полученных результатов с их обсуждением и выводами по каждому разделу, общее заключение, выводы и список цитируемой литературы. Написана диссертация хорошим научным языком.

Обзор литературы диссертации Н.Д. Брошевицкой посвящен различным формам тревожно-депрессивного и оборонительного поведения животных, модели нейровоспалительного стресса и его влияния на поведение, а также изменения поведения крыс в аверсивных ситуациях в зависимости от условий их содержания. Автор, хорошо ориентируясь в большом массиве данных современной литературы, сумела проанализировать часто противоречивые данные и систематизировать их. Основываясь на данных литературы, автор формулирует задачи исследования.

В главе материалы и методы исследования описаны методы, применявшиеся в проведенном исследовании. Подробно описана батарея поведенческих экспериментов. Методические приемы и статистическая обработка результатов, использованные в работе адекватны поставленным задачам.

Большой экспериментальный материал, полученный автором, хорошо структурирован и изложен в следующих главах диссертации. Результаты исследований подробно иллюстрированы рисунками и таблицами, полученные данные обработаны с применением адекватных методов количественного и статистического анализа. При

описании результатов автор в каждом разделе представляет схему экспериментов, что помогает читателю ориентироваться в большом экспериментальном материале.

Экспериментальный материал о влиянии введения ЛПС на 3-и и 5-е сутки после рождения, представленный в работе Н.Д. Брошевицкой, включает изменения различных поведенческих характеристик, а также ряд биохимических показателей крови у самцов и самок различных возрастных групп. Большой массив поведенческих характеристик дает представление о тревожности, склонности к депрессии и проявлениям страха, выраженности социальных контактов у контрольных и экспериментальных животных. Дизайн экспериментов предполагал наличие двух контролей – интактных животных, и крыс с введением физиологического раствора в те же дни и в том же объеме, как и введение ЛПС. Представленные данные позволяют также оценить изменения всех исследованных показателей поведения и биохимии у контрольных и экспериментальных крыс, содержащихся в различных условиях – стандартно содержание, содержание в условиях социальной изоляции или в условиях обогащенной среды.

В работе достоверно показано влияние воздействия ЛПС в раннем периоде развития на тревожно-депрессивное поведение в подростковом возрасте, но не у взрослых. Однако, введение ЛПС в неонатальном периоде изменяло оборонительное поведение взрослых экспериментальных животных. При этом доминировала пассивно-оборонительная стратегия поведения по сравнению с активно-оборонительной. Результаты этого раздела позволяют предложить модель раннего нейровоспаления у крыс в качестве экспериментальной модели посттравматических стрессовых расстройств у человека. Экспериментальные взрослые самцы в отличие от самок проявляли увеличение уровня внутривидовой агрессии, социального доминирования, рост мотивации к социальным взаимодействиям и сексуальной мотивации. Интересны данные о корреляции между социальным доминированием и повышенным уровнем провоспалительного цитокина ИЛ-1 $\beta$ .

Хорошо показано, что социальная изоляция усиливала негативное влияние раннего введения ЛПС по сравнению с контрольными животными на тревожное поведение и выработку условно-рефлекторного страха. При этом социальная изоляция, выступая в роли «второго удара», приводила к тому, что ЛПС самки также проявляли депрессивное поведение. Содержание же в обогащенной среде крыс, подвергавшихся введению ЛПС в отличие от контроля, не оказывало благотворного влияния на снижение уровня тревожности.

В главе Заключение кратко подводится итог проделанной работы, обсуждаются все полученные результаты, проводится их совместный анализ, что позволяет

систематизировать полученные данные. Этот раздел диссертации очень логично подводит к выводам, которые соответствуют целям и задачам исследования и полностью обоснованы полученными результатами исследования.

#### **Недостатки диссертационной работы и автореферата.**

Вместе с тем, после ознакомления с работой остается ряд вопросов и замечаний:

- Не все сокращения были внесены в Список сокращений – ТСК, ГВК;
- Нет обоснования введения ЛПС именно на 3-и и 5-е сутки после рождения;
- на некоторых рисунках значения показателей между контрольными группами (ИНТ и ФИЗ) имеют довольно значимые различия, и автор представляет статистические различия с группой ЛПС то к группе ИНТ, то к ФИЗ (рис. 2 А, Б, В – 2 Г). То же на рис.4. На рисунке 8 А (Влияние провоспалительного стресса на выработку и проявление классического условного оборонительного рефлекса.) – у самок ЛПС равен ФИЗ, но достоверно отличается от ИНТ. Может надо было выбрать один тип контроля?
- Обнаруженные автором нарушения тревожно-депрессивного поведения крыс в 1 месяц в отличие от взрослых 3-х месячных хорошо было бы в будущем проиллюстрировать, вызываемыми ЛПС изменениями нейронов и микроглии с применением иммуногистохимических методов.

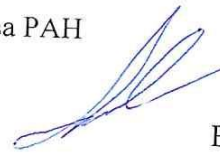
Сделанные замечания не снижают высокой положительной оценки рассматриваемой диссертационной работы. Все результаты, представленные в работе, получены лично автором либо при непосредственном его участии, что подтверждается опубликованными статьями в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК, и апробацией результатов на конференциях. Автореферат отражает основные положения и содержание диссертации.

Результаты работы Н.Д. Брошевицкой имеют принципиальное значение для понимания механизмов воздействия нейровоспалительного стресса в раннем онтогенезе на развитие мозга. Представленные в диссертации материалы можно рекомендовать для включения в образовательный процесс в высших учебных заведениях биологического и медицинского профилей.

**Заключение:** Диссертационная работа Брошевицкой Надежды Дмитриевны «Влияние раннего провоспалительного стресса на тревожно-депрессивное, социальное и оборонительное поведение крыс разного пола», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. – «Физиология человека и животных», является законченной научно-квалификационной работой, в которой автором сформулированы и обоснованы научные положения, совокупность которых можно

квалифицировать как имеющие важное значение для развития физиологии. Полученные результаты достоверны, выводы обоснованы. Автореферат верно отражает содержание диссертации. Принимая во внимание актуальность выполненной работы, ее объем, обоснованность и научную новизну сделанных обобщений и выводов, можно заключить, что диссертация «Влияние раннего провоспалительного стресса на тревожно-депрессивное, социальное и оборонительное поведение крыс разного пола» соответствует предъявляемым к кандидатским диссертациям требованиям, указанным в п.9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК РФ, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842 (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации № 426 от 20.03.2021 г.), а ее автор Брошевицкая Надежда Дмитриевна заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. – Физиология человека и животных.

Ведущий научный сотрудник  
Лаборатории регуляции функций нейронов мозга  
Федерального государственного бюджетного  
учреждения науки Института физиологии им. И.П. Павлова РАН  
доктор биологических наук.  
Специальность 03.03.01 – физиология.



Е.И. Тюлькова

Тюлькова Екатерина Иосифовна  
Адрес: 199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6.  
Тел. +7-921-986-50-67, e-mail: [etyulkova@yandex.ru](mailto:etyulkova@yandex.ru) [tyulkovae@infran.ru](mailto:tyulkovae@infran.ru)

Подпись руки Тюльковой Е.И. удостоверяю  
ст. инспектор Мартынов  
«10» 11 2022г.

