

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Ильчибаевой Татьяны Витальевны «Генетически детерминированное агрессивное поведение и нейротрофические факторы мозга», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – «физиология»

Актуальность исследования. Агрессивное поведение представляет собой комплекс сложных нейропсихологических состояний, в основе которых могут лежать как генетически детерминированные, так физиологические и внешние средовые факторы. Регуляция агрессивного поведения может осуществляться серотонергической (5-HT) и дофаминергической (ДА) системами, а также нейропептидами и нейротрофическими факторами. Исследование механизмов формирования агрессивного поведения с целью выявления ключевых регулирующих молекул имеет первостепенное значение, как для диагностики, так и коррекции поведения такого типа. Диссертационная работа Ильчибаевой Татьяны Витальевны «Генетически детерминированное агрессивное поведение и нейротрофические факторы мозга» посвящена анализу экспрессии в головном мозге нейротрофического фактора мозга BDNF, глиального нейротрофического фактора GDNF и дофаминового нейротрофического фактора CDNF на модели крыс с генетически детерминированным агрессивным поведением с целью выявления их роли в формировании такого поведения. В связи с вышеизложенным актуальность данного исследования не вызывает сомнения.

Научная новизна представленной диссертационной работы не вызывает сомнения, так как исследований экспрессии нейротрофических факторов в разных отделах мозга крыс, генетически отличающихся по агрессивности поведения, в мире не проводилось. Автором впервые выявлено, что у высокоагрессивных крыс наблюдается усиление агрессии хищника и асоциального патологического поведения, в отличие от неагрессивных крыс. Впервые показано повышение экспрессии нейротрофического фактора BDNF и его белка-предшественника proBDNF в структурах мозга агрессивных крыс. В работе впервые показано усиление экспрессии CDNF и его предшественника preCDNF в ряде структур головного мозга крыс с генетически детерминированной агрессией, вызванной страхом, что является первым свидетельством вовлечения данного НТФ в механизмы регуляции агрессии, как формы поведения. Автором впервые выявлено увеличение экспрессии изучаемых нейротрофических факторов в области ядер шва среднего мозга высокоагрессивных крыс.

Теоретическая и практическая значимость результатов диссертационного исследования. Результаты диссертационной работы Ильчибаевой Т.В., показавшие изменение экспрессии BDNF, GDNF и CDNF, как на уровне мРНК, так и на уровне белков, открывают новые возможности для исследования их роли в формировании агрессивного поведения. Результаты работы могут иметь и практическое значение при исследовании такого поведения у человека, когда возможно осуществление трофической поддержки нейротрансмиттерных систем. Полученные результаты могут быть также полезным дополнением к курсу «Молекулярные и клеточные основы нейропластичности» для студентов ФЕН НГУ.

Степень достоверности и обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Основные результаты по исследованию уровня мРНК и белкового продукта нейротрофических факторов в разных разделах мозга крыс получены лично автором. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнения, в эксперимент было взято более 50-ти животных двух линий крыс. Все исследования проведены с привлечением современных физиологических и молекулярно-биологических экспериментальных методик. Выводы и рекомендации диссертационной работы корректны и в полной мере отражают полученные результаты.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа Ильчибаевой Т.В. изложена на 101 странице, она содержит 17 рисунков и 7 таблиц. Диссертационная работа включает введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение, выводы, список цитируемой литературы из 237 источников.

Во введении автор обосновывает актуальность выбранного исследования, на основании чего четко формулирует цель и задачи исследования, научную новизну, теоретическую и практическую значимость полученных результатов, положения, выносимые на защиту. Обзор литературы состоит из двух глав. Первая глава посвящена нейробиологии агрессивного поведения, где представлены современные данные об его типах и молекулярных механизмах агрессивного поведения. Автор справедливо отмечает, что молекулярные механизмы регуляции агрессивного поведения весьма разнообразны, при этом роль нейротрофических факторов остается малоисследованной. Во второй главе приводится информация о роли нейротрофических факторов в агрессивном поведении с акцентом на изучаемые в работе BDNF, GDNF и CDNF. В заключении автор также указывает на малую изученность роли этих факторов в формировании агрессивного поведения.

Материалы и методы проведенного исследования вполне адекватны поставленной цели и решаемым задачам. В качестве модели в работе использована линия крыс,

селекционированная в течение 85-поколений по агрессивному поведению. Для выполнения поставленных задач Ильчибаева Т.В. использовала набор современных методов физиологии и молекулярной биологии.

В главе «Результаты» представлены результаты собственных исследований, последовательно приводятся этапы проведения экспериментов, характеризующих исследуемые группы крыс по поведению в физиологических тестах. После этого проводится анализ экспрессии нейротрофических факторов в разных разделах мозга агрессивных и неагgressивных крыс. В главе «Обсуждение» проводится достаточно детальный и глубокий анализ полученных результатов в контексте сравнения с современными данными научной литературы. Автор указывает также на необходимость поддержания нужного уровня нейропластических процессов в структурах мозга, участвующих в контроле агрессивного поведения. На основании полученных результатов исследования автором формулируются выводы работы. В целом, считаю, что диссертационная работа выполнена на высоком научно-методическом уровне.

Результаты проведенного исследования убедительно показали, что длительный отбор на высокий уровень защитно-оборонительной агрессии приводит к увеличению хищнической и патологической агрессии. У таких животных выявлено значительное повышение уровня мРНК гена *Bdnf* в области ядер шва среднего мозга, миндалевидном комплексе, прилежащих ядрах, гипotalамусе и фронтальной коре. Показано достоверное уровня белка-предшественника proBDNF и зрелой формы BDNF в гиппокампе, миндалевидном комплексе и прилежащих ядрах агрессивных животных, а также повышение уровня зрелого белка BDNF в области ядер шва и стриатуме. Во фронтальной коре высокоагрессивных крыс наблюдается снижение уровня proBDNF, но без изменений в уровне зрелого белка. Установлено повышенное содержание мРНК гена *Gdnf* в области ядер шва среднего мозга и снижение во фронтальной коре у агрессивных животных по сравнению с ручными. В миндалевидном комплексе и гипotalамусе исследуемых животных транскрипты данного гена обнаружены не были. У крыс, селекционированных на высокий уровень защитно-оборонительной агрессии, обнаружено снижение уровня белка-предшественника proGDNF в области ядер шва среднего мозга; в стриатуме и прилежащих ядрах данная форма белка не была выявлена. Уровень зрелой мономерной формы белка GDNF оказался достоверно выше в миндалевидном комплексе, чёрной субстанции и области ядер шва среднего мозга высокоагрессивных крыс, в то время как в стриатуме и прилежащих ядрах мономеров GDNF не было обнаружено. Установлено, что димерная форма белка GDNF выявляется во всех исследованных структурах мозга, при этом в миндалевидном комплексе агрессивных крыс уровень данной формы существенно

увеличен, а в гиппокампе снижен. Выявлено достоверное увеличение уровня мРНК гена *Cdnf* в большинстве исследованных структур высокоагрессивных крыс за исключением стриатума и миндалевидного комплекса. В гиппокампе и гипоталамусе животных, селекционированных на высокий уровень вызванной страхом агрессии, обнаружено повышение уровня белка предшественника preCDNF и, вместе с этим, его снижение во фронтальной коре. В то же время, зрелая форма белка CDNF детектировалась только в области ядер шва среднего мозга, гиппокампе, фронтальной коре и чёрной субстанции. При этом у высокоагрессивных животных выявлено увеличение уровня белка CDNF во фронтальной коре. Полученные результаты, без сомнения, представляют большой интерес для научно-исследовательских учреждений, занимающихся проблемами поведения, в частности агрессивного типа. Использование результатов исследования, полученных Ильчибаевой Т.В, представляется также целесообразным для физиологов, генетиков, биохимиков и патофизиологов.

Материалы диссертационного исследования доложены и обсуждены на 3-х международных научных конференциях. По результатам диссертации опубликовано 6 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК, из них 4 статьи в зарубежных журналах.

Выводы диссертации соответствуют цели, задачам и основным положениям.

При прочтении диссертации у меня возникли некоторые вопросы:

1. Замечание по Вестерн-блоту: на всех рисунках есть лишь указание м.м., но сами маркеры отсутствуют. Это возможно, но тогда необходимо приводить иммуноокрашивание тестируемого белка.
2. На мой взгляд, пока еще рано говорить о механизмах формирования (развития) агрессивного поведения крыс лишь по уровню экспрессии исследуемых нейротрофических факторов, как это утверждает автор, например, на стр. 8.
3. В исследовании определялось содержание мРНК и белкового продукта нейротрофических факторов в разных отделах мозга. В обсуждении автор анализирует, главным образом, содержание белкового продукта, тогда не понятно, для чего измерялся уровень экспрессии гена? Между тем, сравнение этого параметра с содержанием белка ответило бы на вопрос о транскрипционном- или пост-транскрипционном механизмах регуляции экспрессии факторов в головном мозге.

Приведенные выше вопросы носят, в основном, дискуссионный характер и не снижают моей высокой оценки выполненной работы.

Заключение. Диссертационная работа на тему «Генетически детерминированное агрессивное поведение и нейротрофические факторы мозга» соответствует критериям пп. 9-14 "Положения о порядке присуждения ученых степеней", утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842, и представляет собой завершенную научно-квалификационную работу, а ее автор Ильчибаева Татьяна Витальевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Гуляева Людмила
Федоровна

Официальный оппонент

доктор биологических наук, профессор,
руководитель лаборатории молекулярных
механизмов канцерогенеза Федерального
государственного бюджетного научного
учреждения «Научно-исследовательский
институт молекулярной биологии и
биофизики»

630117, Россия, г. Новосибирск,

ул. Тимакова, 2/12,

Тел. 8(383) 335-98-47

imbb@niimbb.ru

<http://niimbb.ru>

Подпись профессора Гуляевой Л.Ф.

заверяю:

Ученый секретарь, к.б.н.

17 апреля 2017 г.

