

ОТЗЫВ

официального оппонента Новиковой Наталии Сергеевны

на диссертацию **Мориной Ирины Юрьевны** на тему «**Роль моноаминов в регуляции функциональной активности орексинергических нейронов гипоталамуса на разных стадиях онтогенеза**», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.03.01 (физиология) и 03.03.04 (клеточная биология, цитология, гистология).

Актуальность темы диссертации

Диссертация И.Ю. Мориной «Роль моноаминов в регуляции функциональной активности орексинергических нейронов гипоталамуса на разных стадиях онтогенеза» посвящена вопросам нейропластичности подкорковых структур мозга.

Цель диссертационного исследования является изучением морфофункциональных взаимодействий между дофаминергическими и серотонинергическими нейронами с орексинергическими нейронами мозга на разных этапах онтогенеза.

В настоящее время одним из актуальных вопросов современной биологии является изучение центральных механизмов нейроэндокринной регуляции, обеспечивающих интеграцию и поддержание постоянства внутренней среды взрослого и развивающегося организма. Влияние неблагоприятных факторов эндогенного и экзогенного характера является причиной нарушений вегетативных функций. Центральным звеном регуляции вегетативных функций является гипоталамус, клеточные ансамбли которого ответственны за выполнение той и или иной функции. Орексинергические нейроны, локализованные в перифорникальных структурах латеральной гипоталамической области, являются предметом исследования современной психонейроэндокринологии. Отростки этих нейронов прослеживаются практически во все отделах головного и спинного мозга, а рецепторы к орексинам определяются в центральной нервной системе и за ее пределами. Итогом зарубежных и отечественных

исследований последних двух десятилетий явилось определение участия орексина в запуске и контроле таких вегетативных функций как пищевого поведения и цикла сон-бодрствование, восприятия чувства боли, контроль энергетического баланса, а также проявляться в развитии целого ряда психических, когнитивных и двигательных расстройств. Наряду с орексинами в осуществлении этих функций вовлечены и другие нейромедиаторы. Предметом исследования данной работы являются моноамины дофамин и серотонин. Нейроны, продуцирующие эти биогенные амины, широко представлены в ЦНС, и экспрессируют на своей поверхности трансмембранные рецепторы к орексинам. Необходимо отметить, что отростки орексиновых нейронов обильно представлены в зонах мозга, где сосредоточены дофамин- и серотонинергические нейроны, а на орексинергических нейронах экспрессируются рецепторы к данным аминам. Дофамин является одним из химических факторов внутреннего подкрепления и служит важной частью системы вознаграждения мозга и определяет процессы мотивации и обучения. Серотонин также влияет на процессы памяти и когнитивные способности, темп и качество мышления, подавляет агрессивность. Снижение его уровня приводит к возникновению депрессии. Известно, что орексин контролирует функциональную активность дофамин- и серотонин-содержащих нейронов, однако роль этих моноаминов в регуляции самих орексинергических нейронов гипоталамуса до сих пор мало изучена. Особый интерес вызывает изучение данной проблемы в пренатальный период, поскольку именно в это время поддержание гомеостаза и адаптация развивающегося организма к постоянно меняющимся условиям как внутренней, так и внешней среды важны для формирования и функционирования мозга в постнатальный период.

Исследования становления нейроэндокринной регуляции актуальны, как для фундаментальной науки - физиологии, и биологии развития, гистология, цитология, так и для медицины, поскольку нарушения

метаболизма физиологически активных веществ в организме нередко приводят к развитию как врожденных так приобретенных заболеваний.. Изучение механизмов взаимодействия моноаминов и орексинергических нейронов в норме и при патологии позволит определить новые пути в диагностике и лечении заболеваний, вызванных дисфункциями этих систем.

В связи с этим диссертационная работа И.Ю. Мориной по определению роли моноаминов в регуляции функциональной активности орексинергических нейронов гипоталамуса, как в норме, так и после стрессирующих воздействий в эмбриональный и постнатальный период развития является без сомнения актуальной.

Новизна проведенных исследований и полученных результатов

В диссертации И.Ю. Мориной представлены результаты, обладающие научной новизной и имеющие практическую значимость:

1. С помощью комплексного методического подхода в работе получены данные, впервые демонстрирующие возможность регуляторного влияния дофамина и серотонина орексинергических нейронов через соответствующие рецепторы (D1 и D2, 2C и 1B), в ходе эмбрионального и постнатального периода.

2. В работе использованы высокоинформативные методы исследования. Методом иммуофлюоресценции для одновременного выявления орексин-содержащих нейронов и рецепторов дофамина впервые показана колокализация рецепторов D1 и D2 на орексин-позитивных нейронах и изменение их соотношения в эмбриональный и постнатальный период развития

3. Исследование орексинергических нейронов гипоталамуса после введения αМПП (блокатора активности тирозингидроксилазы) и селективных антагонистов рецепторов дофамина D1 и D2

продemonстрировало уменьшение оптической плотности орексин-позитивных нейронов и соответственно их количества. Автор предполагает о функционировании гетеродимерных D1/D2-рецепторных комплексов, которые могут определять однонаправленное действие дофамина через D1- и D2-сигнальные пути.

4. Изучение функционального состояния орексинергической системы гипоталамуса на фоне нарушения баланса моноаминов было выполнено на крысах линии Крушинского–Молодкиной (KM), с наследственной предрасположенностью к аудиогенным судорожным припадкам, крысах линии WAG/Rij с абсансной формой эпилепсии, а также крысах DAT-KO – нокаутных по гену дофаминового транспортера. При патологиях, сопровождающихся дисфункцией дофамина и серотонина в мозге, в частности, при генетически обусловленной эпилептической активностью различного генезиса, в работе убедительно показана активация системы орексиновых нейронов гипоталамуса: увеличение уровня экспрессии гена рецепторов орексина первого и второго типа, препроорексина и повышение оптической плотности орексин-содержащих нейронов. Таким образом, данные, полученные на животных с генетически обусловленной аудиогенной судорожной активностью, раскрывающие молекулярно-клеточные механизмы развития данного типа эпилепсии, могут быть в определенной мере полезны для поиска новых противосудорожных средств

5. Диссертант убедительно продемонстрровала, что активность орексинергических нейронов на фоне дисбаланса моноаминов при метаболических расстройствах зависит от степени развития ожирения: ранние этапы развития ожирения сопровождаются активацией орексинергической системы, а на фоне более выраженных изменений метаболических показателей, напротив, наблюдается снижение ее активности.

Теоретическая и практическая значимость полученных автором результатов

Результаты диссертационной работы И.Ю. Мориной и сделанные на их основе заключения имеют большое теоретическое значение, расширяющее имеющиеся представления о молекулярно клеточных механизмах взаимодействия катехоламинов и орексинергических нейронах гипоталамуса. Исследование имеет фундаментальный характер и направлено на изучение нейрохимических механизмов, обеспечивающих взаимосвязь орексинергических нейронов с дофамин- и серотонинергическими нейронами мозга. Полученные результаты расширяют представления о роли орексинергических нейронов гипоталамуса в регуляции функций, контролируемых дофаминергической и серотонинергической системами мозга (стресс, пищевое поведение, двигательная активность и др.). Получены новые данные, демонстрирующие функциональное взаимодействие орексин- и моноаминергических систем мозга как в норме, так и при патологиях. Данные исследований при моделировании таких заболеваний как эпилепсия, ожирение, двигательные расстройства могут быть использованы для разработки новых методов диагностики нарушения функционирования этих систем, а также определения фармацевтических стратегий их коррекции. Практическая ценность результатов работы Мориной И.Ю. заключается в том, что они могут быть использованы как основа при разработке подходов, направленных на нейропротекцию, восстановление вегетативных функций, двигательной активности при патогенезе различной этиологии. Материалы диссертации могут быть использованы в курсах лекций и практических занятий для студентов биологических и медицинских факультетов университетов и медицинских институтов.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

При выполнении диссертационного исследования И.Ю. Морина использовала современные молекулярно-биологические, биохимические, иммуногистохимические и физиологические методы, адекватные целям и задачам работы, что позволило получить новые и интересные результаты. Особое внимание автор обратила на подбор и отработку наиболее удобной модели пренатального стресса, выбора экспериментальных животных с нарушенным балансом моноаминов: при диета-индуцированном ожирении, при меланокортиновом типе ожирения.

Выводы и заключения работы обоснованы большим объемом экспериментального материала, и подвернутого обработке различными методами статистического анализа. Достоверность полученных данных определяется и подтверждается использованием стандартизированного оборудования и правильным подбором комплекса современных методов исследования биологического материала. Результаты диссертационной работы И.Ю. Мариной были неоднократно представлены и обсуждены на Всероссийских и международных конференциях, а также отражены в 7 статьях в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ, а также тезисы в других печатных изданиях

Оценка содержания диссертации И.Ю. Мариной соответствует традиционным стандартам и рекомендациям ВАК. Во введении автор обосновывает актуальность темы исследования, четко формулирует цель и задачи работы. «Обзор литературы», составленный на основании анализа более 300 публикаций, значительная часть которых опубликована в последнее десятилетие, дает представление о современном уровне разработанности темы и существующих на сегодняшний день проблем. В разделе «Материал и методы» дано достаточно подробное описание всех

использованных биохимических, молекулярно-биологических, физиологических методов, а также примененных способов статистической обработки экспериментальных результатов. В разделах «Результаты и их обсуждение» последовательность представления полученных экспериментальных данных логична; иллюстративный материал (10 таблиц и 39 рисунков) информативен и достаточен. Выводы диссертации обоснованы и отражают полную реализацию цели и задач работы.

Таким образом, можно сделать заключение о том, что рецензируемая диссертация И.Ю. Мориной является законченным (в рамках поставленных задач) научным исследованием, в котором получены новые данные по влиянию дофамина и серотонина на нейроны гипоталамуса, синтезирующие орексины.

Замечания по диссертационной работе

Принципиальных замечаний по диссертации И.Ю. Мориной нет. Тем не менее, в порядке дискуссии хотелось бы получить ответы диссертанта на следующие вопросы:

1. Локализация орексинергических нейронов гипоталамической области подробно описана, произведено их картирование в латеральной гипоталамической зоне и установлены проекции на рисунке, которых Вы приводите в диссертации с опечаткой. Скажите, пожалуйста, нейроны орексин-позитивные, которые Вы определили в таламической области, какие проекции предположительно могут образовывать?

2. В работе данные по орексин-позитивным клеткам таламической локализации приведены только в главе с иммобилизационным стрессом. Каков характер изменений этих клеток у животных с нарушенным балансом моноаминов: эпилепсия, ожирение?

3. Чем Вы руководствуетесь, когда пишете об активации орексинергических нейронов только по результатам иммуногистохимии, ведь усиленная оптическая плотность может быть вызвана снижением медиаторной функции?

Изложенные выше замечания ни в какой степени не влияют на высокую оценку диссертации, материал которой, на наш взгляд, даже превышает обычно представляемый в кандидатских диссертациях.

Сказанное позволяет заключить, что диссертационная работа на тему: «Роль моноаминов в регуляции функциональной активности орексинергических нейронов гипоталамуса на разных стадиях онтогенеза», отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (т.е. критериям, установленным «Положением о присуждении ученых степеней» от 24.09.2013 №842), а автор ее Морина Ирина Юрьевна, заслуживает присуждения искомой степени по специальностям 03.03.01 (физиология) и 03.03.04 (клеточная биология, цитология, гистология).

31.10.2019

Старший научный сотрудник
отдела Общей физиологии и патофизиологии
ФГБНУ ИОМ, кандидат биологических наук



Новикова И.С.

Подпись руки старшего научного сотрудника

Новиковой Натальи Сергеевны заверяю

Подпись *Новиковой И.С.*
Удостоверяется



Новикова И.С.