

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертацию Фурсенко Дарии Викторовны «Влияние нокаута гена фактора некроза опухоли на центральную нервную систему и поведение мышей», представленную в диссертационный совет Д 001.014.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология

**Актуальность исследования.** Цитокины, обладая выраженными психо- и нейротропными свойствами играют важнейшую физиологическую роль в нервной системе, опосредуя взаимодействия между ее клеточными элементами через аутокринные или паракринные механизмы, которые поддерживают гомеостаз в ЦНС и регулируют поведенческие реакции.

Клетки мозга (нервные и глиальные) подобно клеткам иммунной системы, несут на мембране рецепторы цитокинов; причем, синтез и продукция ряда цитокинов, равно как и экспрессия их рецепторов в головном мозге, изменяются при воздействии различных иммунных стимулов, обуславливая при этом прямо или косвенно, через множество альтернативных процессов, определенные эмоциональные и когнитивные реакции. Установлено, также, что синтез большинства про- и противовоспалительных цитокинов в структурах мозга наблюдается не только в результате активации иммунной системы, но и в нормальных физиологических условиях, т.е. имеет место базовый уровень экспрессии цитокинов и их рецепторов, равно как и конститутивная выработка цитокинов, в мозге, что предполагает их участие в реализации нормальных физиологических функций ЦНС. Так, убедительно доказано участие провоспалительных цитокинов, в том числе и TNF $\alpha$ , в физиологических механизмах регуляции сна и бодрствования, активности гипоталамо-

гипофизарно-надпочечниковой системы, реализации стресс-реакции и формировании определенного стереотипа поведения. При этом необходимо помнить о том, что каждый цитокин является частью цитокиновой сети и способен индуцировать свой собственный синтез и синтез других цитокинов. Удобной моделью для изучения роли каждого отдельного цитокина в развитии, функционировании ЦНС и в реализации поведенческих реакций являются линии мышей с нокаутом гена конкретного цитокина, но лишь в том случае, если экспериментальная модель нокаута хорошо охарактеризована с морфологической и функциональной точек зрения.

В связи с вышеизложенным, диссертационная работа Д.В. Фурсенко, посвященная изучению поведенческих паттернов, морфологии и серотониновой системы головного мозга, возрастных изменений указанных характеристик у созданной в 2005 году российскими учеными линии мышей с нокаутом гена фактора некроза опухоли является актуальной.

Работа имеет традиционную структуру, состоит из введения, 4 глав, посвященных обзору литературы, описанию материалов и методов исследования, полученных результатов и их обсуждению, заключения, выводов и 1 приложения. Материал изложен на 93 страницах машинописного текста, включающего 21 таблицу и 13 рисунков; список цитируемой литературы состоит из 255 источников. Содержание работы с достаточной полнотой отражено в автореферате.

Во введении автором четко и убедительно формулируются все необходимые элементы диссертационного исследования: актуальность выбранной темы, цель, задачи, теоретическая и научно-практическая значимость исследования, положения, выносимые на защиту.

Представленный в 1 главе диссертации обзор литературы свидетельствует о достаточной ориентированности автора в исследуемой проблеме. Подробно описана структура гена, кодирующего TNF, физиологически активные формы молекулы цитокина, структура рецепторов и сигнальные пути, посредством которых реализуются биологические



эффекты цитокина. Показана роль фактора некроза опухоли в регуляции функций ЦНС в норме и при различных патологических состояниях. Представлена также характеристика серотониновой системы головного мозга в ее взаимоотношениях с TNF и описание существующих линий мышей с нокаутом гена указанного цитокина.

Материалы и методы описаны корректно и в достаточной степени подробно. Обращает на себя внимание хорошо продуманный дизайн диссертационного исследования.

В 3 главе представлены собственные результаты автора, отражающие у мышей 2- и 4-месячного возраста влияние нокаута гена TNF на потребление пищи, воды, суточную динамику двигательной активности и сна, реализацию поведенческих реакций. Показаны также особенности морфологии головного мозга нокаутов на основе данных магнитно-резонансной томографии в указанные возрастные периоды и влияние нокаута гена цитокина на уровень и метаболизм серотонина в структурах головного мозга, участвующих в психонейроиммунотуляции.

Следует отметить, что качественно проведенный анализ представленных в современной литературе сведений по изучаемому вопросу, позволил автору грамотно организовать собственное исследование и логично обсудить полученные результаты. Все сделанные автором выводы корректны и подтверждены экспериментальным материалом.

#### **Научная новизна диссертации.**

В работе Д.В. Фурсенко впервые показано отличие темпов формирования определенных отделов мозга у мышей с нокаутом гена фактора некроза опухоли по сравнению с животными дикого типа: в возрасте двух месяцев размер гипофиза у нокаутов меньше, что соответствует проявлению реакции каталептического замирания почти у половины исследованных животных.

Установлено, что в возрасте четырех месяцев у нокаутов по сравнению с животными дикого типа меньше время неподвижности в тесте

принудительного плавания, регистрируемое на фоне относительно более высокого уровня 5-НТ в коре и гиппокампе при сниженном метаболизме серотонина в коре.

Автором получены новые данные, свидетельствующие о том, что нокаут гена фактора некроза опухоли приводит к изменениям в регуляции сна, проявляющимся в снижении средней продолжительности сна и увеличении среднего числа эпизодов сна.

**Достоверность** представленных в диссертации Д.В. Фурсенко результатов не вызывает сомнений; методическое обеспечение работы находится на уровне современных мировых исследований в этой области. Выбор методов обоснован целью, соответствует задачам, поставленным автором, и в оптимальной мере служит их решению, равно как и достижению цели. Анализ эмпирических данных осуществлялся посредством адекватных методов математической статистики, выводы обоснованы полученными результатами.

**Теоретическая и практическая значимость полученных автором диссертации результатов.**

Результаты диссертационной работы Д.В. Фурсенко вносят вклад в понимание роли фактора некроза опухоли в развитии центральной нервной системы и в реализации поведенческих реакций. Научно-практическая значимость работы заключается в оценке нейробиологических и поведенческих характеристик у созданной российскими учеными линии мышей с нокаутом гена фактора некроза опухоли, что является необходимым этапом для составления паспорта данной линии.

Все вышеизложенное позволяет положительно оценить диссертационное исследование Д.В. Фурсенко. При этом, наряду с явными достоинствами работы, в качестве пожелания, можно указать на необходимость в ряде случаев более корректного подбора терминов для интерпретации полученных результатов.



Например, автор на основании собственных результатов постулирует о роли дефицита TNF в регуляции поведения. Указанный цитокин, несомненно, участвует в регуляции поведенческих реакций, на что указывают многочисленные литературные данные, тем не менее, представленные в работе результаты могут свидетельствовать о влиянии нокаута гена фактора некроза опухоли лишь на реализацию указанных реакций, но никак не на их регуляцию.

В работе также делается заключение о том, что отсутствие TNF уменьшает выраженность депрессивно-подобного поведения, что предполагает «наличие» подобного поведения у интактных животных дикого типа, которые использовались в качестве группы сравнения. Данное заявление получило бы полноправное экспериментальное доказательство в случае моделирования депрессивно-подобного поведения у нокаутов и мышей дикого типа с последующим сравнением выраженности его составляющих, в том числе и ангедонии, у этих групп животных. В данном случае, возможно, более корректно было бы говорить о влиянии нокаута гена TNF на формирование определенной реакции на стресс?

Следует отметить, что вышеизложенное пожелание ни в коей мере не снижает теоретической и практической ценности результатов, изложенных в диссертации.

В целом работа Д. В. Фурсенко представляет собой грамотно спланированное и добросовестно выполненное научное исследование; полученные результаты имеют развернутую психофизиологическую интерпретацию; выводы и положения, выносимые на защиту, строго аргументированы, логически обоснованны.

По теме диссертации опубликовано 6 работ, из них 3 статьи в рецензируемых отечественных (2) и международных (1) журналах. Результаты работы представлены и опубликованы в материалах научных конференций, в том числе всероссийских и международных.

**Заключение.** Актуальность темы, научная новизна, теоретическая и практическая значимость полученных результатов позволяют заключить, что диссертационная работа Фурсенко Д. В. «Влияние нокаута гена фактора некроза опухоли на центральную нервную систему и поведение мышей» является самостоятельно выполненной, законченной научно-квалификационной работой, соответствующей установленным требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842, с изменениями постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335 "О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней», предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Фурсенко Дария Викторовна заслуживает присвоения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Официальный оппонент

Зав. лабораторией нейроиммунологии  
НИИФКИ, доктор медицинских наук

  
Е.В. Маркова

Подпись д.м.н. Е.В. Марковой заверяю,  
Ученый секретарь НИИФКИ  
Гаврилова Елена Давидовна, к.б.н.

19 сентября 2017 года.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (НИИФКИ)

630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14,

Телефон +7(383) 222-26-74

e-mail: [niiki01@online.nsk.su](mailto:niiki01@online.nsk.su)