

ОТЗЫВ

официального оппонента кандидата биологических наук, доцента Кудряшова Никиты Викторовича на диссертационную работу Сорокина Ивана Евгеньевича «Влияние длины светового дня на серотониновую систему мозга и поведение мышей и рыб вида *Danio rerio*», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. Физиология человека и животных

Актуальность работы

Сезонное аффективное расстройство (САР) – частный случай рекуррентного депрессивного расстройства или биполярного аффективного расстройства, которое возникает в результате уменьшения продолжительности светового дня и характеризуется типичными для депрессивного эпизода симптомами – гиперсомнией, утратой интересов, повышением аппетита, увеличением массы тела и т.д. Согласно результатам эпидемиологических исследований 10-20% случаев рекуррентной депрессии имеют сезонный характер с рецидивом в осенне-зимний период и ремиссией в весенне-летний. Заболевание чаще поражает молодую часть населения, снижает качество жизни, нарушает социальную и трудовую функции.

Разработка новых подходов к профилактике и лечению САР требует всестороннего изучения механизмов, лежащих в основе патогенеза этого заболевания. Результаты клинических исследований свидетельствуют о возможной роли серотонинергической системы в патогенезе САР, однако возможности данных исследований ограничены. В то же время основной проблемой экспериментального изучения САР является отсутствие валидированных моделей этой патологии. Результаты предварительных исследований указывают на возможность моделирования САР у мышей линии C57BL/6, однако такой подход не лишен недостатков, поскольку эти животные ведут ночной образ жизни, то уменьшение продолжительности светового дня

в меньшей степени затрагивает их физиологические процессы, а также они не способны синтезировать мелатонин из-за нарушения активности арилалкиламин-N-ацетилтрансферазы. Перечисленные особенности могут ограничивать валидность представленной экспериментальной модели CAP. Одним из возможных решений данной проблемы является использование животных другого вида, в частности рыб *Danio rerio*, которые ведут дневной образ жизни, а их физиология, молекулярная биология и генетика изучены так же хорошо, как и у грызунов, что позволяет использовать их в качестве модельного объекта для изучения серотонинергических механизмов реакции на короткий световой день.

В связи с этим актуальность диссертационного исследования Сорокина Ивана Евгеньевича, посвященного изучению влияния продолжительности светового дня на серотонинергическую систему головного мозга и поведение мышей и рыб вида *Danio rerio*, не вызывает сомнений.

Научная новизна

В работе Сорокина И.Е. впервые была воспроизведена и модифицирована экспериментальная модель CAP, основанная на длительном содержании мышей C57BL/6 в условиях короткого светового дня. На модифицированной модели CAP было впервые изучено влияние генетически детерминированного снижения активности триптофангидроксилазы 2 на поведение, а также содержание и оборот серотонина в структурах головного мозга мышей линии C57BL/6. Установлено, что мутация C1473G в гене триптофангидроксилазы 2 в сочетании с уменьшением продолжительности светового дня приводит к уменьшению уровня серотонина и увеличению его оборота в гиппокампе, но не усиливает депрессивноподобное поведение мышей C57BL/6.

В представленном исследовании рыбы вида *Danio rerio* были впервые использованы для моделирования CAP и изучения роли серотонинергической

системы в патогенезе этого заболевания. Впервые было изучено влияние продолжительности светового дня на поведение, активность триптофангидроксилазы и моноаминоксидазы, экспрессию генов триптофангидроксилазы и моноаминоксидазы, серотонинового транспортера и различных подтипов серотониновых рецепторов у рыб *Danio rerio*. Установлено, что содержание в условиях уменьшения продолжительности светового дня приводит к маскулинизации самок, уменьшению массы тела, двигательной активности и увеличению уровня 5-гидроксииндолуксусной кислоты в головном мозге *Danio rerio*. Длительное применение параклорфенилаланина приводит к увеличению двигательной активности и экспрессии генов триптофангидроксилазы 1а и триптофангидроксилазы 2, а также уменьшению содержания 5-гидроксииндолуксусной кислоты в головном мозге *Danio rerio*.

Научно-практическая значимость

Разработанный автором подход к моделированию САР, основанный на длительном содержании рыб *Danio rerio* в условиях уменьшенной продолжительности светового дня, может быть использован для дальнейшего изучения механизмов, лежащих в основе патогенеза этого заболевания, а также для поиска новых методов профилактики и коррекции САР.

Полученные результаты вносят вклад в понимание роли серотонинергической системы головного мозга в регуляцию реакции ЦНС на длительное содержание рыб *Danio rerio* в условиях уменьшенной продолжительности светового дня, а также генетически детерминированного снижения активности триптофангидроксилазы у мышей линии C57BL/6.

Автором разработан алгоритм длительной автоматической регистрации и анализа поведения группы рыб в домашнем аквариуме.

Степень обоснованности и достоверности основных положений, выводов и рекомендаций

Достаточный объем исследований, использование валидированных экспериментальных методик, а также всесторонний анализ полученных результатов позволяют утверждать, что основные положения диссертационной работы и выводы экспериментально обоснованы.

Статистическая обработка полученных данных проведена с помощью адекватных методов биомедицинской статистики, в связи с чем достоверность полученных результатов и сделанных на их основании выводов не вызывает сомнений.

Общая характеристика работы

Диссертационная работа изложена на 123 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов, обсуждения результатов, заключения и выводов. Работа содержит 22 рисунка и 10 таблиц. Список используемой литературы включает 211 источников, в том числе 15 отечественных и 196 зарубежных.

Во введении автором четко сформулированы актуальность, цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, приведены положения, выносимые на защиту.

В обзоре литературы на основе анализа результатов большого количества клинических и экспериментальных исследований приведены данные о серотонинергической системе головного мозга млекопитающих, эпидемиологии и основах патогенеза САР, отдельное внимание уделено дисфункции серотонинергической системы при данном заболевании.

В главе «Материалы и методы» подробно изложена информация о объектах исследования (мышях и рыбах), включающая их содержание и

этические нормы, дизайне трех экспериментов, описаны использованные в работе методы: измерения суточной активности мышей в домашней клетке, а также поведенческих реакций в тестах «Открытое поле», «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Принудительное плавание»; измерения активности группы рыб *Danio rerio* в домашнем аквариуме и тесте «Новый аквариум»; определения уровня и оборота серотонина, активности триптофангидроксилазы, моноаминоксидазы; статистической обработки полученных результатов.

В главе «Результаты» представлены результаты собственных исследований, посвященных изучению влияния: мутации C1473G и продолжительности светового дня на поведение и серотонинергическую систему головного мозга мышей C57BL/6 (эксперимент 1), пола и продолжительности светового дня на рыб вида *Danio rerio* (эксперимент 2), а также продолжительности светового дня и пара-хлорфенилаланина на рыб вида *Danio rerio* (эксперимент 3).

В главе «Обсуждение результатов» представлен всесторонний анализ полученных результатов и их критическое сопоставление с данными литературы. В частности, полученные результаты проанализированы с трех позиций: (1) сравнения с литературными данными, (2) сравнения реакции на короткий световой день у рыб и мышей и (3) связи вызванных коротким световым днем изменений с активностью триптофангидроксилазы. Результаты, полученные автором в эксперименте с использованием мышей линии C57BL/6, согласуются с данными ранее проведенных исследований, что подтверждает воспроизводимость и некоторые аспекты валидности рассматриваемой модели. Результаты, полученные в экспериментах с использованием рыб вида *Danio rerio*, характеризуются сходным паттерном нейрхимических нарушений, ранее выявленных у мышей линии C57BL/6: у обоих видов содержание при коротком дне вызывает увеличение уровня 5-гидроксииндолуксусной кислоты в головном мозге. Автором было выявлено снижение двигательной активности в новой обстановке (что соответствует

усилению тревожности) у рыб, содержащихся при короткой продолжительности светового дня, что согласуется с увеличением тревожности у мышей, выявленным зарубежными исследователями и самим Сорокиным И.Е. в других его работах. Одним из значимых результатов исследования является выявленное отсутствие у двух видов связи между умеренным снижением активности триптофангидроксилазы и выраженностью вызванных короткой продолжительностью светового дня поведенческих нарушений.

Выводы непосредственно вытекают из полученных данных, обоснованы, аргументированы, соответствуют целям и задачам исследования.

По материалам диссертации опубликованы 6 статей в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России, 1 статья в международном журнале и 8 тезисов материалов научных съездов и конференций.

Критические замечания и вопросы по диссертации

Принципиальных возражений диссертация не вызывает, в ней встречаются опечатки и стилистические неточности, которые не умаляют достоинств работы.

В ходе ознакомления с работой появился вопрос дискуссионного характера:

Почему в данной работе не были изучены межполовые различия у мышей C57BL/6 по аналогии с рыбами вида *Danio rerio*?

Заключение

Диссертационная работа Сорокина Ивана Евгеньевича «Влияние длины светового дня на серотониновую систему мозга и поведение мышей и рыб вида *Danio rerio*» является законченным научно-квалификационным трудом, выполненным автором самостоятельно. Работа написана единолично,

свидетельствует о высокой профессиональной подготовленности автора и содержит новые научные результаты и положения, касающиеся роли серотониновой системы мозга в реакции на короткий световой день.

По актуальности темы, методическому и научному уровню, новизне и научно-практической значимости полученных результатов, обоснованности научных положений и выводов диссертация соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842, с изменениями от 18.03.2023 г., предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Сорокин Иван Евгеньевич заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. Физиология человека и животных.

Ведущий научный сотрудник лаборатории фармакологии психических заболеваний отдела нейрпсихофармакологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», к.б.н., доцент

Кудряшов Н.В.

Подпись Кудряшова Н.В. заверяю.

Ученый секретарь ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», к.б.н.

Крайнева В.А.

