

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу  
Княжевой Марии Александровны «Редактирование депрессивно-подобного фенотипа  
модулированными *ex vivo* кофеином иммунокомпетентными клетками»,  
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по  
специальности 3.2.7. Аллергология и иммунология.

### Актуальность темы

Актуальность исследования проблемы депрессивных расстройств связана с их большим медико-биологическим и социальным значением, определяемым высокой распространенностью среди населения всего мира, ежегодным ростом темпов заболеваемости, обусловленным социальными стрессорными факторами, сложностями диагностики, а также недостаточно хорошо разработанными подходами к профилактике и терапии. Депрессивные расстройства характеризуется гетерогенностью, высокой коморбидностью, склонностью к затяжному течению, что способствует нарушению социальной и трудовой адаптации, и, как следствие, приводит к значительным экономическим потерям. Применение стандартной лекарственной терапии, используемой для коррекции нарушений в когнитивной сфере при депрессивных расстройствах не обеспечивает полного исцеления, препараты имеют ряд побочных эффектов, требуют постоянного и длительного курса приема, при этом остается большой процент пациентов с хроническими симптомами, резистентностью к лечению, что диктует необходимость проведения исследований по поиску новых подходов к коррекции состояния депрессивности. Многочисленные факты указывают на важную роль нарушения процессов нейроиммунного взаимодействия, количества и активности иммунокомпетентных клеток и продуцируемых ими цитокинов в патогенезе депрессии. Иммунные нарушения при тревожно-депрессивных расстройствах у человека и при их моделировании у животных включают подавление иммунного ответа, угнетение Т-клеточных функций, активацию клеток врожденного иммунитета. При этом депрессия рассматривается как хронический вялотекущий воспалительный процесс, обусловленный, в частности, провоспалительным эффектом хронического стресса, когда наблюдается усиление мобилизации моноцитов из костного мозга в циркуляцию и их миграция в селезенку и головной мозг, индукция резистентности миелоидных клеток к глюкокортикоидам;

повышение уровня провоспалительных цитокинов в крови и в ЦНС. Цитокины, продуцируемые иммунокомпетентными клетками, проникая через гематоэнцефалический барьер, оказывают модулирующее влияние на цитокиновую сеть мозга, а затем, посредством влияния на нейроэндокринные функции, нейротрансмиттерные системы, нейрональную активность и пластичность, вовлекаются в патофизиологические механизмы депрессии. Изменение цитокинового профиля на периферии и в ЦНС, модуляция активности нейротрансмиттерных систем, опосредуют также иммуномодулирующие и поведенческие эффекты психоактивных веществ, применяемых в терапии депрессивных расстройств. Тем не менее, несмотря на значительные достижения в этой области, классические антидепрессанты и анксиолитики, как указывалось выше, не обеспечивают желаемого долговременного эффекта, равно как и применение антицитокиновой терапии, что обуславливает важность проведения исследований, направленных на выяснение патофизиологических механизмов депрессивных расстройств, равно как и поиска новых эффективных методов их коррекции, основанных на иммунологических подходах, что и определяет актуальность диссертационного исследования Княжевой М.А., целью которого было изучение влияния трансплантации иммунокомпетентных клеток, модулированных *ex vivo* кофеином, на функциональную активность иммунной и нервной систем, поведенческий фенотип у депрессивно-подобных сингенных реципиентов. Тесная взаимосвязь психо- и иммунопатологии, однонаправленное влияние большинства психоактивных веществ на клетки нервной и иммунной систем, выраженные рецептор-опосредованные психонейроиммуномодулирующие свойства кофеина позволили автору сформулировать гипотезу о возможности редактирования депрессивно-подобного фенотипа путем трансплантации модулированных вне организма кофеином иммунокомпетентных клеток. Подтверждению этой гипотезы и посвящено диссертационное исследование Княжевой М.А., являющееся однозначно актуальным и своевременным.

#### **Степень обоснованности и достоверности научных положений и выводов**

Диссертационная работа Княжевой М.А. выполнена на высоком методическом уровне и представляет собой завершенное научное исследование. Сформулированные автором цель и задачи исследования достигнуты полностью. Научные положения, выносимые на защиту, базируются на изучении большого объема выборки



наблюдений, достаточного для получения достоверных результатов. Современные методы исследования, тщательный анализ полученных данных, адекватно подобранные методы статистического анализа, высокий уровень статистической значимости полученных результатов убеждают в достоверности полученных результатов. Выводы обоснованы результатами исследований и четко сформулированы.

Основные положения диссертации представлены в виде докладов на внушительном ряде всероссийских и международных конференций; опубликованы в 40 научных работах, включая 23 статьи, 14 из которых представлены в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки РФ для публикации материалов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, в том числе 2 статьи в журналах международных баз данных Web of Science, Scopus, 1 статья в журнале RSCI; остальные публикации представлены тезисами докладов, 5 из которых опубликованы в журналах вышеуказанных международных баз данных. Получен 1 патент на изобретение.

### **Научная новизна диссертации**

В диссертации Княжевой М.А. впервые показано, что иммунокомпетентные клетки селезенки депрессивно-подобных самцов (CBAx57BL/6)F1, обработанные *in vitro* кофеином, изменяют свои функциональные свойства и после внутривенного введения сингенным депрессивно-подобным реципиентам оказывают выраженное позитивное иммунно- и психонейромодулирующее влияние, воздействуя на основные патогенетические механизмы депрессии. В представленной работе впервые установлено, что модулированные *ex vivo* кофеином спленоциты депрессивно-подобных доноров вызывают у депрессивно-подобных сингенных реципиентов иммуностимулирующий эффект, проявляющийся в усилении антителообразования в селезенке при системном иммунном ответе и повышении пролиферативной активности спленоцитов. Впервые показано, что трансплантация прекультивированных с кофеином спленоцитов вызывает у депрессивно-подобных сингенных реципиентов снижение катаболизма триптофана в селезенке на фоне снижения продукции спленоцитами провоспалительных (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ , ИНФ- $\gamma$ ) и повышения противовоспалительных (ИЛ-10 и ИЛ-4) цитокинов. Впервые также выявлено снижение уровня ряда провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИНФ- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$ , являющихся биомаркерами антидепрессантной терапии при повышении

уровня противовоспалительных цитокинов ИЛ-4, ИЛ-10 в патогенетически значимых структурах головного мозга, указывающих на снижение нейровоспаления у депрессивно-подобных реципиентов после трансплантации модулированных *ex vivo* кофеином сингенных спленоцитов; при этом впервые показано повышение нейрональной площади в СА1 и СА3 полях гиппокампа и уровня BDNF в гиппокампе и префронтальной коре, свидетельствующее о стимуляции процессов нейропластичности и установлена возможность редактирования депрессивно-подобного поведения (снижение ангедонии, выраженное увеличение временных периодов мобильности при снижении периодов пассивного плавания с исчезновением периодов полной неподвижности в воде в тесте Порсолта, выраженная стимуляция моторного и исследовательского компонентов ориентировочно-исследовательского поведения).

Считаю, что все выводы, изложенные в данной работе, являются новыми и демонстрируют успешное достижение поставленной цели и решения задач, сформулированных в рамках данного исследования.

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

Экспериментальное моделирование депрессии - один из основных подходов для изучения патогенетических механизмов заболевания и поиска новых эффективных подходов к его терапии. В связи с этим, диссертационная работа Княжевой М.А. имеет важное теоретическое и научно-практическое значение, заключающееся в расширении представлений о роли иммунокомпетентных клеток в патогенетических механизмах состояния депрессивности и возможности их использования для редактирования депрессивно-подобного фенотипа. Результаты исследования выявили возможность модулирования функциональной активности иммунной системы (повышение интенсивности гуморального иммунного ответа, пролиферативной активности клеток селезенки, снижение в спленocyтах катаболизма триптофана и изменение продукции ими ряда цитокинов, являющихся биомаркерами антидепрессантной терапии и указывающими на снижение провоспалительной активности спленоцитов) трансплантацией иммунокомпетентных клеток с измененной *ex vivo* кофеином функциональной активностью. Показана также возможность модулированных кофеином ИКК корректировать депрессивно-подобное поведение на фоне снижения нейровоспаления и стимуляции процессов нейропластичности в



патогенетически значимых для состояния депрессивности структурах головного мозга, что имеет неоспоримое значение для фундаментальной медицины.

Проблема поиска новых эффективных методов лечения депрессии, преодоления полной или частичной фармакорезистентности, а также снижения побочного действия применяемых лекарственных препаратов до сих пор остается открытой и очень актуальной, учитывая большое количество пациентов с депрессивными расстройствами во всем мире. Полученные результаты могут служить экспериментальным обоснованием разработки новых технологий иммунотерапии депрессивных расстройств аутологичными иммунокомпетентными клетками с модулированной *ex vivo* кофеином функциональной активностью, что и определяет практическую значимость диссертационного исследования. Последняя также определяется использованием результатов диссертационного исследования в учебном процессе при подготовке лекционного материала и проведении научных семинаров для аспирантов и ординаторов, проходящих обучение в НИИФКИ.

### **Общая оценка диссертации**

Диссертация имеет классическую структуру и включает введение, главы «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты собственных исследований», «Обсуждение результатов», заключение, выводы, список используемой литературы. Материал диссертации изложен на 200 страницах машинописного текста, иллюстрирован 30 рисунками и 7 таблицами. Библиографический указатель содержит 371 цитируемый источник (в том числе 69 работ отечественных авторов), при этом 276 процитированных научных работ (74, 4 %) опубликованы за последние пять лет.

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; содержится информация об апробации работы и личном вкладе автора в получение представленных результатов.

Представленный в 1 главе диссертации обзор литературы соответствует теме диссертации и свидетельствует о достаточной ориентированности автора в исследуемой проблеме. Подробно описаны известные на сегодняшний день иммунологические и патофизиологические механизмы формирования депрессивных

расстройств, отраженные в существующих гипотезах; экспериментальные модели депрессии, подходы к лечению большого депрессивного расстройства; при этом существенное место уделено характеристике иммуномодулирующих свойств кофеина.

В главе «Материалы и методы» автор представляет характеристику использованных в работе экспериментальных животных; корректно и подробно описывает применяемые методы исследования, которые являются адекватными для решения поставленных задач.

В 3 главе представлены собственные результаты автора, полученные в ходе проведенных экспериментов. Обращает на себя внимание хорошо продуманный дизайн диссертационного исследования. Автор предварительно проводит верификацию выбранной модели на самцах гибридах (CBA x C57Bl/6)F1. Представленные в настоящей главе результаты убедительно свидетельствуют о том, что клетки селезенки, выделенные у мышей в депрессивно-подобном состоянии и обработанные *in vitro* кофеином, изменяют свои функциональные свойства и после трансплантации сингенным депрессивно-подобным реципиентам оказывают выраженное позитивное психонейроиммуномодулирующее влияние, выражающееся в редактировании депрессивно-подобного фенотипа реципиентов, путем воздействия на основные патогенетические механизмы состояния депрессивности, что проявляется: в редактировании паттернов депрессивно-подобного поведения (снижении ангедонии, стимуляции ориентировочно-исследовательского поведения и двигательной активности в тесте «Принудительное плавание»); в модуляции функциональной активности иммунной системы (стимуляции антителообразования в селезенке при системном иммунном ответе, пролиферативной активности спленоцитов, на фоне подавления их провоспалительной активности и снижения катаболизма триптофана); в стимуляции процессов нейропластичности, на что указывает усиление нейрогенеза в гиппокампе на фоне повышения уровня BDNF в гиппокампе и префронтальной коре; в изменении содержания ряда цитокинов в патогенетически значимых для состояния депрессивности структурах головного мозга (гиппокампе, гипоталамусе, префронтальной коре, стриатуме) свидетельствующем о снижении нейровоспаления. Представленные в настоящей главе рисунки и таблицы наглядно отображают полученные результаты.

Глава «Обсуждение результатов» содержит интерпретацию полученных данных. При прочтении этого раздела чувствуется сформированное авторское мнение



на исследованную проблему. 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.

В «Заключении» автор лаконично и точно обобщает полученные результаты.

Все сделанные автором выводы сформулированы четко, корректны и подтверждены экспериментальным материалом. Выводы соответствуют поставленным задачам и отражают основные положения диссертации.

Диссертационная работа Княжевой М.А. изложена грамотным научным языком. Автореферат соответствует тексту диссертационной работы; публикации автора в полной мере отражают основное содержание работы.

Принципиальных замечаний по представленной работе нет; присутствующие незначительные стилистические погрешности ни в коей мере не умаляют достоинств работы.

В ходе изучения материалов диссертации возникли следующие вопросы для обсуждения:

1. Как можно объяснить связь между процессами нейровоспаления и нейропластичности; какие патогенетически значимые механизмы такой взаимосвязи при депрессивном состоянии предполагает автор?
2. В работе приведены довольно интересные данные, полученные с использованием цитометрического исследования, свидетельствующие о присутствии прекультивированных с кофеином и меченных витальным красителем спленцитов в головном мозге депрессивно-подобных реципиентов, что указывает на возможность непосредственного влияния введенных клеток на ЦНС. Тем не менее, эти данные приведены в главе, посвященной обсуждению полученных результатов при объяснении предполагаемых механизмов психонейромодулирующего влияния трансплантированных клеток. Почему автор не счел нужным представить эти данные в главе, описывающей результаты собственных исследований?

Вышеизложенные вопросы имеют дискуссионный характер и не снижают общего положительного впечатления от работы и значимости проведенного научного исследования.

## **Заключение**

Актуальность темы, научная новизна, теоретическая и практическая значимость полученных результатов позволяют заключить, что диссертационная работа Княжевой Марии Александровны «Редактирование депрессивно-подобного фенотипа модулированными *ex vivo* кофеином иммунокомпетентными клетками» является самостоятельно выполненной, законченной научно-квалификационной работой, отражающей эффекты модулированных вне организма кофеином иммунокомпетентных клеток и раскрывающей основные механизмы их влияния при депрессивно-подобном состоянии. Диссертационная работа полностью соответствует установленным требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (в редакции от 11.09.2021), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор, Княжева Мария Александровна, заслуживает искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. Аллергология и иммунология.

Официальный оппонент:

заместитель директора по научной работе,  
заведующая лабораторией молекулярной  
генетики и биохимии НИИ психического  
здоровья Томского НИМЦ, доктор медицинских  
наук (по специальностям 3.1.17. Психиатрия и наркология  
3.3.3. Патологическая физиология),  
профессор (по специальности «Психиатрия»),  
Телефон: 8(3822) 72-43-79;  
e-mail: ivanovaniipz@gmail.com  
15 мая 2023 г.

С.А. Иванова

Подпись С.А. Ивановой заверяю  
Ученый секретарь Томского НИМЦ,  
к. б. н.  
15.05.2023

И.Ю. Хитринская

Научно-исследовательский институт психического здоровья  
государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный  
исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (НИИ  
психического здоровья Томского НИМЦ)  
Почтовый адрес: 634014, Томская область, г. Томск, ул. Алеутская, 4.  
Тел.: (3822) 72-43-79; Факс: (3822) 72-44-25  
Сайт: <http://tomsk institute.mental-health.ru>