

ОТЗЫВ

**официального оппонента Колик Ларисы Геннадьевны
на диссертацию Перегуда Данила Игорьевича
«Роль нейротрофического фактора мозга BDNF в механизмах опиной
абстиненции (экспериментальное исследование)», представленную на
соискание ученой степени доктора биологических наук
по специальности 1.5.24 – «Нейробиология»**

Актуальность избранной темы

Актуальность исследования определяется эпидемиологическими данными, согласно которым за последние 5 лет по количеству выявляемых наркологических больных ситуация в большинстве регионов Российской Федерации продолжает оставаться напряженной. В соответствии со Стратегией государственной антинаркотической политики Российской Федерации на период до 2030 года предусматривается сокращение числа больных химическими зависимостями, в том числе путем совершенствования методов лечения и медицинской реабилитации больных с опиоидной зависимостью. Поиск новых молекулярных мишеней для возможной фармакологической регуляции патологических состояний, обусловленных действием психоактивных веществ, относится к одним из важнейших направлений современной нейробиологии. Развитие опиной зависимости и манифестация синдрома отмены сегодня рассматриваются как вариант нейропластичности, однако точные молекулярные механизмы данного процесса неизвестны. Таким образом, диссертационное исследование Перегуда Данила Игорьевича, целью которого было изучение механизмов экспрессии мозгового нейротрофического фактора (BDNF) в отделах головного мозга крыс при опиной абстиненции и выявление функциональной роли BDNF в реализации синдрома отмены морфина у крыс, выполнено на актуальную тему.

Структура и содержание работы

Диссертация изложена на 222 страницах и состоит из введения, обзора литературы, описания использованных материалов и методов, экспериментальных результатов и их обсуждения, заключения и выводов. Во введении автор обосновывает актуальность темы исследования, формулирует его цель и задачи. Опираясь на данные литературы и предварительные собственные результаты, автором предложена рабочая гипотеза, согласно которой экспрессия BDNF при отмене морфина изменяется в различных отделах головного мозга, а манипуляция уровнем BDNF способна модулировать проявления абстинентных расстройств поведения. Цель и задачи исследования сформулированы ясно и четко. В положениях, выносимых на защиту, лаконично сформулирована суть работы. В обзоре литературы представлен исчерпывающий объем сведений о механизмах действия опиатов, приведены современные представления о воздействии опиатов на нейропластические процессы. Значительная часть обзора отведена основам функционирования BDNF, а именно, чрезвычайно подробному описанию экспрессии гена BDNF и регуляции его транскрипции, внутриклеточным сигнальным каскадам, которые активируются при взаимодействии BDNF с рецептором. При рассмотрении BDNF как регулятора развития опиной зависимости и абстиненции систематизированы результаты последних исследований в зависимости от характера действия опиатов (острый или хронический), способа введения (системный или локальный), нейроанатомических структур мозга, продолжительности отмены морфина, а также обозначены нерешенные вопросы в отношении особенностей экспрессии экзон-специфической мРНК BDNF при острой интоксикации морфином, транскрипционной регуляции гена BDNF в условиях действия опиатов и посттрансляционного контроля уровня BDNF. Особого интереса заслуживает анализ результатов исследований взаимодействия BDNF и оксида азота, что позволяет лучше понять функционирование ЦНС и важность указанных систем в аспекте развития опиной зависимости и манифестации

абстинентных расстройств. Раздел «Материалы и методы» написан подробно, использованы современные экспериментальные подходы с привлечением методов оценки поведения грызунов, а также биохимических и молекулярно-биологических методов. Эксперименты проведены на достаточных выборках животных с применением адекватных методов статистического анализа. Раздел, посвященный описанию полученных результатов и их обсуждению логично структурирован в соответствии с поставленными задачами и подкреплен достаточным объемом экспериментальных данных. Результаты представлены в 24 таблицах и 43 рисунках. На основании полученных результатов предложена рабочая схема вовлеченности BDNF и оксида азота в механизмы опиоидной абстиненции, что наглядно проиллюстрировано соответствующей схемой. Список литературы включает 465 отечественных и зарубежных источников.

Новизна полученных результатов, выводов и положений, выносимых на защиту

Результаты, представленные в первой части работы, свидетельствуют о том, что при опиоидной абстиненции отмечается повышение экспрессии BDNF, в основе чего могут лежать как транскрипционные, так и посттранскрипционные процессы. В частности, повышение уровня мРНК BDNF, содержащей экзон I, во фронтальной коре при абстиненции сопровождалось повышением связывания транскрипционного фактора CREB с соответствующими регуляторными участками гена BDNF. Установлено, что увеличение экспрессии BDNF может быть связано со сниженной деградацией мРНК BDNF посредством микроРНК. Поскольку подавляющая часть данных не представлены в мировой литературе, полученные результаты могут рассматриваться как приоритетные. Выявление того факта, что уровень BDNF при отмене морфина изменяется, не говорит о его функциональной вовлеченности в абстинентные расстройства, поэтому, следуя внутренней логике работы, на следующих этапах проведены исследования и анализ функциональной роли BDNF и взаимосвязь нейротрофина с NO-системой в

условиях отмены морфина. Автором впервые выявлена взаимосвязь сигнальных каскадов, опосредованных оксидом азота и содержанием BDNF в отделах ЦНС крыс в условиях спонтанной отмены морфина, что сопряжено с выраженностью абстинентных расстройств. В отличие от опиатной, алкогольная абстиненция характеризовалась увеличением экспрессии BDNF в гиппокампе за счет транскрипционной регуляции активности промотора экзона VI, при этом направление изменений зависело от паттерна потребления этилового спирта.

Особого внимания заслуживает часть работы, посвященная функциональной роли BDNF в реализации эффектов морфина и алкоголя. При однократном введении зрелого BDNF в вентральную область покрышки (средний мозг) в период отмены морфина регистрировали уменьшение выраженности поведенческих проявлений опиатной абстиненции. Несколько иная картина наблюдалась при моделировании постоянно растущей алкогольной мотивации с последующей отменой раствора этанола (абстиненция 48-72 часа). Экспериментально доказано, что стимуляция сигналинга BDNF с помощью 7,8-дигидроксифлавона, природного флавоноида, способного при системном введении преодолевать гематоэнцефалический барьер и имитировать действие BDNF, избирательно активируя рецептор тирозинкиназы B и нижестоящие сигнальные пути, лишь частично ослабляет проявления ранней алкогольной абстиненции, не влияя на сформированную алкогольную мотивацию у крыс. Нельзя исключить, что модуляция функциональной активности BDNF-сигналинга при ином режиме введения позволит корректировать потребление этанола на фоне алкоголь-депривационного эффекта, то есть влиять на сформированную алкогольную мотивацию у «сильно-пьющих» животных. Несомненным достоинством работы является выбор экспериментальной модели алкоголизации крыс и последующее разделение популяции животных не по количеству потребляемого алкоголя, а с учетом паттерна потребления для последующего

изучения экспрессии BDNF и, возможно, для дифференцированного подхода к подбору средств фармакотерапии с учетом состояния BDNF-сигналинга.

Таким образом, использование средств, способных модулировать активность соответствующих каскадов, позволило обоснованно подтвердить предложенную автором гипотезу о ключевом участии BDNF в фармакологических эффектах морфина и при купировании проявлений опийной абстиненции.

Теоретическая и практическая значимость работы

Установленная взаимосвязь BDNF и оксида азота, а также их способность ослаблять проявления физической зависимости от морфина расширяет представления о фундаментальных механизмах данного типа зависимости. Полученные результаты потенциально могут стать основой для дальнейших доклинических исследований при создании новых фармакологических средств, способных напрямую или опосредованно стимулировать обозначенные нейрохимические системы, для купирования опийной абстиненции.

Достоверность результатов исследования

Результаты, полученные в ходе исследования Перегуда Данила Игорьевича, изложены в 18 научных работах, в том числе в 15 статьях в рецензируемых научных изданиях, индексируемых аналитическими базами SCOPUS, WoS и RSCI, а также в 3 статьях в журналах из списка ВАК, определенных пунктом 2.3 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова. Публикации, в которых представлены результаты работы, имеют цитирования. Кроме того, исследования выполнены при поддержке серии грантов РФФИ, результаты которых были одобрены экспертными советами. Степень достоверности и надежность результатов обеспечивается достаточным количеством биологических и технических повторов, а также выбором адекватных методов статистического анализа.

Принципиальных замечаний к диссертационному исследованию Перегуда Д.И. нет. Незначительные замечания по оформлению и стилистические ошибки не влияют на общую положительную оценку работы.

Заключение

Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.5.24 – «Нейробиология» по биологическим наукам, а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена, согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Перегуд Данил Игорьевич заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.24 – «Нейробиология».

27 октября 2023

Главный научный сотрудник
лаборатории фармакологической
регуляции состояний зависимости,
доктор биологических наук,
профессор РАН

Колик Лариса Геннадьевна

Подпись



Подпись Колик Л.Г. заверяю:

Ученый секретарь НИИ фармакологии
имени В.В. Закусова
к.б.н.



Крайнева В.А.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова»

125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

Телефон: +7(495) 601-22-38

e-mail: nauch@pharm.fed.ru

**Шифр и наименование специальности, по которой защищена
диссертация оппонентом: 14.03.06 – Фармакология, клиническая
фармакология**