

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию на соискание ученой степени

доктора биологических наук Перегуда Данила Игорьевича на тему:

«РОЛЬ НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА МОЗГА BDNF В

МЕХАНИЗМАХ ОПИЙНОЙ АБСТИНЕНЦИИ

(экспериментальное исследование)»

по специальности 1.5.24 – «Нейробиология»

Актуальность темы исследования

Патологическая зависимость от препаратов опиоидного ряда занимает ведущее место в структуре наркологических заболеваний. Распространенность заболеваний, связанных со злоупотреблением опиатов и опиоидов, составляет более 1% мировой популяции взрослого населения. Злоупотребление опиатами вызывает стойкую психическую и физическую зависимость, которая характеризуется абстинентными расстройствами при отмене потребления. Синдром отмены при прекращении поступления препарата является одним из основных факторов, определяющих формирования опиоидной зависимости. Несмотря на многочисленные исследования и определенный прогресс в понимании основ формирования зависимости, ее точные нейробиологические механизмы до конца не выяснены. Данные литературы свидетельствуют о вовлеченности нейротрофического фактора мозга (BDNF) в адаптационные процессы ЦНС при действии психоактивных веществ, в том числе опиатов. Однако, особенности экспрессии, а также функциональная роль BDNF при отмене опиатов при сформированной зависимости практически не исследованы. Также показано, что медиатор оксид азота (NO) вовлечен в механизмы реализации фармакологических эффектов опиатов, но роль NO в развитии опиоидной зависимости и абстиненции, а также его взаимосвязь с системой BDNF в данных условиях не изучены.

Формирование опиатной зависимости и развитие абстинентных расстройств являются актуальной медицинской и социально-экономической проблемой. Поэтому тема диссертационного исследования Перегуда Данила Игорьевича, целью которого являлось изучение механизмов экспрессии BDNF в отделах головного мозга крыс при опиоидной абстиненции, а также выяснение взаимосвязи NO и BDNF при синдроме отмены морфина, является, безусловно, важной и актуальной.

Научная новизна результатов и обоснованность положений диссертации, выносимых на защиту

При выполнении диссертационного исследования Д.И. Перегудом было впервые установлено, что при отмене морфина экспрессия BDNF повышается в отделах головного мозга крыс за счет транскрипционной регуляции промотора экзона I. Кроме того, было показано, что увеличение экспрессии BDNF может быть связано со сниженной деградацией мРНК BDNF посредством специфических микроРНК. Эксперименты, проведенные Данилом Игорьевичем, показали, что введение ингибитора NO-синтазы в период формирования зависимости от морфина предотвращает увеличение уровня BDNF в отделах головного мозга, что сопровождается усилением абстинентных расстройств поведения. Автором было впервые продемонстрировано, что введение рекомбинантного BDNF в вентральную область покрышки после отмены морфина ослабляет выраженность поведенческих проявлений спонтанного синдрома отмены. Выявленные Д.И. Перегудом особенности экспрессии BDNF специфичны для отмены морфина. Автором были сопоставлены данные, полученные на модели зависимости от морфина, с результатами, полученными в модели потребления алкоголя. Сравнение показало, что в отличие от отмены морфина, алкогольная абстиненция характеризуется увеличением экспрессии BDNF в гиппокампе за счет транскрипционной регуляции активности промотора экзона VI. Как и в случае с отменой морфина, стимуляция рецептора BDNF частично ослабляет поведенческие проявления ранней алкогольной абстиненции.

Таким образом, Д.И. Перегудом получены новые актуальные данные, которые вносят существенный вклад в понимание механизмов развития зависимости от морфина и манифестации синдрома отмены.

Оценка научной и практической значимости полученных результатов, выводов и ключевых положений диссертационной работы

Установленная Д.И. Перегудом взаимосвязь BDNF и NO, а также способность данных нейрхимических систем ослаблять проявления абстиненции расширяет современные представления о природе опиной зависимости и ее последствий. Полученные Д.И. Перегудом данные позволили Автору предложить концептуальную модель регуляции BDNF и его роли в реализации опиной абстиненции. Проведенные исследования предполагают возможность фармакологического воздействия на системы BDNF и NO при терапевтических мероприятиях, направленных на купирование опиной абстиненции. Вышесказанное свидетельствует о высокой научной и практической значимости результатов и ключевых положений диссертационной работы Д.И. Перегуда.

Достоверность результатов исследования

Достоверность результатов, представленных в диссертации, обусловлена использованием корректных экспериментальных моделей и широкого спектра поведенческих, биохимических и молекулярно-биологических методов. В экспериментах использованы современные и воспроизводимые методики. При анализе результатов применены адекватные методы статистической обработки. Обоснованность выводов и положений, выносимых на защиту, обеспечивается профессиональной интерпретацией собственных результатов с привлечением современных данных литературы.

Надежность и оригинальность полученных результатов подтверждается публикацией статей в рецензируемых рейтинговых научных журналах (из 18 статей по теме исследования 15 включены в международные базы данных). Кроме того автором подготовлена глава в Национальном руководстве по наркологии. Обоснованность исследования и его новизна

подтверждается многократной поддержкой грантами РФФИ. Результаты работы были доложены на отечественных и международных мероприятиях, организованных авторитетными научными обществами.

Структура и объем диссертации

Диссертация Перегуда Данила Игорьевича построена по традиционной схеме и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, изложения результатов исследования и их обсуждения, заключения и выводов. Работа изложена на 222 страницах, содержит 43 рисунка и 24 таблицы. Список литературы включает 465 публикаций.

Во введении автор обосновывает актуальность и важность темы исследования. В главе 1 «Обзор литературы» представлены современные данные о механизме действия опиатов, структуре и функции нейротрофического фактора мозга BDNF, а также особенности строения и экспрессии гена этого белка, роли микроРНК в регуляции экспрессии BDNF на посттранскрипционном уровне. Автор подробно описывает рецепторы BDNF и внутриклеточные сигнальные каскады, которые запускает этот нейротрофин. Кроме того, в обзоре представлены данные о влиянии опиатов на экспрессию BDNF, о роли этого нейротрофического фактора в развитии опиоидной зависимости и его взаимодействии с оксидом азота NO, также об участии сигнального каскада NO/цГМФ в реализации абстинентных расстройств. Отдельный раздел обзора посвящен патогенезу алкогольной зависимости и абстиненции, а также влиянию BDNF на проявления алкогольной абстиненции.

Представленные в обзоре данные свидетельствуют о том, что механизмы развития опиоидной зависимости и абстиненции в настоящее время не выяснены, функциональная роль BDNF при отмене опиатов на фоне сформированной зависимости практически не охарактеризована, имеющиеся в литературе данные достаточно противоречивы. Все это подтверждает актуальность темы диссертационного исследования Д.И. Перегуда.

В главе 2 «Материалы и методы исследования» дана характеристика использованных экспериментальных животных, представлены схемы проведенных экспериментов и подробное описание использованных методов. При выполнении диссертационного исследования автором был использован широкий спектр современных физиологических, биохимических и молекулярно-биологических методов. Используемые экспериментальные подходы соответствовали поставленным задачам. В конце раздела охарактеризованы методы статистической обработки результатов.

В главе 3 «Результаты и обсуждение» представлены итоги собственных экспериментов Д.И. Перегуда. Автор продемонстрировал адекватность использованной модели спонтанного синдрома отмены морфина (наличие типичных признаков абстиненции у грызунов, снижение массы тела). А затем с использованием данной модели Данил Игорьевич исследовал молекулярные механизмы экспрессии BDNF в мозге крысы при острой и субхронической интоксикации, а также при спонтанной отмене морфина. Полученные Автором результаты свидетельствуют о повышении экспрессии мРНК BDNF, содержащей только экзон 1, в структурах мозга крыс в ответ на отмену морфина, но не на острую или хроническую интоксикацию. Исследование транскрипционных и посттранскрипционных механизмов экспрессии BDNF при спонтанной отмене морфина, проведенное Д.И. Перегудом, показало роль транскрипционного фактора CREB и микроРНК в регуляции уровня мРНК нейротрофина в этих условиях. Автором также было продемонстрировано увеличение уровня белка BDNF во фронтальной коре крыс, специфичное для абстиненции. В следующих экспериментах Д.И. Перегуд провел исследование взаимосвязи оксида азота NO с абстинентными нарушениями поведения. Автором было показано, что введение ингибитора NO-синтазы в период формирования зависимости от морфина предотвращает увеличение уровня BDNF в отделах головного мозга, что сопровождается усилением абстинентных расстройств. На основании полученных данных был сделан вывод о взаимосвязи отдельных компонентов сигнального

каскада NO с тяжестью абстинентных нарушений у крыс. Оценка взаимодействия NO и BDNF в отделах головного мозга крыс показала, что NO способен регулировать содержание белка BDNF и активность его рецептора TrkB во фронтальной коре при спонтанной отмене морфина. Проведенные исследования позволили Автору высказать предположения о функциональной роли BDNF в реализации фармакологических эффектов морфина и развитии синдрома отмены. Последний раздел диссертационного исследования Д.И. Перегуда посвящен изучению роли BDNF в регуляции потребления алкоголя и алкогольной абстиненции. Сравнение полученных результатов с данными, зарегистрированными в модели синдрома отмены морфина, показало, что отмена морфина и алкогольная абстиненция характеризуются регион-специфическими особенностями экспрессии BDNF как на уровне транскрипции, так и на посттранскрипционном уровне. При этом, как и в случае отмены морфина, стимуляция сигналинга BDNF частично ослабляла проявления алкогольной абстиненции, однако не оказывала выраженного влияния на мотивацию к потреблению этанола.

В диссертационной работе Д.И. Перегуда отсутствует отдельный раздел «Обсуждение результатов», однако описание каждой экспериментальной серии завершается подробным обсуждением полученных результатов и сопоставлением их данными литературы. Текст диссертационной работы Д.И. Перегуда завершается разделом «Заключение», в котором автор обсуждает и обобщает полученные результаты. На основании проведенных исследований автором сделаны обоснованные выводы, которые полностью соответствуют поставленным задачам.

Д.И. Перегудом выполнен огромный объем экспериментальных исследований, получены новые интересные данные. Основные положения диссертационного исследования опубликованы в научной печати, доложены и обсуждены на конференциях и конгрессах. Автореферат полностью отражает основное содержание работы. Существенных замечаний по

содержанию диссертационной работы нет. Однако при чтении работы возникли следующие некоторые вопросы и замечания.

Замечания и вопросы по диссертации

1. Как указано Автором в обзоре литературы, «...исследования BDNF у больных с опийной зависимостью не многочисленны и зачастую противоречивы». Далее приведены многочисленные примеры противоречий в результатах клинических исследований содержания BDNF у таких пациентов. В различных исследованиях уровень BDNF в крови больных зависимостью от опиатов мог быть как повышенным, так и пониженным. В чем причина, по Вашему мнению, столь противоречивых результатов клинических исследований?

2. Автором зарегистрированы изменения параметров поведения крыс в тесте ПКЛ при отсроченной абстиненции, которые свидетельствуют о снижении тревожности животных. При этом «снижение тревожности при отсроченной абстиненции сопровождается повышенным уровнем NO_x^- в гиппокампе». Данные литературы также свидетельствуют об анксиолитических эффектах NO. Можно ли на основании этих данных говорить о том, что NO противодействует изменениям поведения при абстиненции?

3. В тексте диссертации отмечено довольно много стилистических опечаток, что снижает впечатление от прочитанного.

В порядке обсуждения хотелось бы получить ответы на эти вопросы.

Вместе с тем, указанные замечания носят дискуссионный характер и не умаляют значимости диссертационного исследования

Заключение

Учитывая актуальность темы исследования, адекватность использованных методов, новизну и объем полученных результатов, их научно-практической значимость, а также публикации по теме исследования можно заключить, что диссертация «Роль нейротрофического фактора мозга BDNF в механизмах опийной абстиненции (экспериментальное

исследование)» 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 вполне заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.24 – «Нейробиология».

Официальный оппонент

(Специальность, по которой защищена диссертация оппонентом: 03.00.13 – Физиология)

Старший научный сотрудник кафедры физиологии человека и животных биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», доктор биологических наук

Левицкая Наталья Григорьевна

Дата 20.11.2023

Контактные данные:

119234, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12
Телефон: + 7 (495) 939-33-55
e-mail:

