

## ОТЗЫВ

официального оппонента заведующего лабораторией физиологии мотиваций ФГБНУ «НИИ нормальной физиологии им. П.К.Анохина» д.м.н., проф. **Котова А.В.** на диссертацию **Шагиахметова Фариды Шамилевича** на тему «Нарушение экспрессии генов опиоидной системы мозга в патогенезе экспериментальной алкогольной зависимости», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология.

**Актуальность темы диссертационного исследования.** Тема диссертационного исследования Шагиахметова Фариды Шамилевича «Нарушение экспрессии генов опиоидной системы мозга в патогенезе экспериментальной алкогольной зависимости», безусловно, является актуальной, что определяется высокой медико-социальной значимостью проблемы алкоголизма во всем мире и недостаточной изученностью механизмов формирования алкогольной зависимости на ее ранних стадиях. Известно, что одним из ключевых факторов высокого риска злоупотребления алкоголем является нарушение функций дофаминергической системы мозга. Вместе с тем, дисфункция мезолимбической дофаминовой системы может быть обусловлена не только (и не столько) нарушением непосредственно механизмов дофаминовой нейротрансмиссии, но и дисбалансом модулирующих ее систем, в первую очередь, опиоидной системы. При этом под модулирующим действием понимают её возможное участие как в усилении дофаминергической нейротрансмиссии, так и в снижение её активности. На сегодняшний день вопрос о модуляторной роли опиоидергических механизмов в процессах регуляции функций дофаминовой системы на ранних стадиях формирования зависимости остается открытым. Основное внимание при исследовании механизмов подкрепляющего действия алкоголя в ходе развития алкогольной зависимости было сосредоточено на выяснение роли мю-опиоидных пептидных (MOP) рецепторов, в результате чего была постулирована целесообразность применения антагониста MOP рецепторов налтрексона в терапии алкоголизма. Однако клинические наблюдения показывают достаточно низкую эффективность MOP-антагонистов. В связи с этим важной задачей является исследование и других звеньев опиоидной регуляции мезолимбической дофаминергической системы на ранних этапах формирования алкогольной зависимости. Решению этой задачи и посвящено диссертационное исследование Шагиахметова Ф.Ш.

**Научная новизна работы.** В работе впервые проведен комплексный анализ экспрессии генов опиоидной системы у крыс на начальных этапах формирования предпочтения алкоголя и развития алкогольной зависимости в условиях свободного выбора. Впервые в основу отбора животных и формирования экспериментальных групп животных с целью оценки риска формирования алкогольной зависимости положен не

критерий изначального предпочтения алкоголя, а его рост в процессе добровольного потребления. Получены новые данные, свидетельствующие, что низкий уровень транскрипционной активности генов каппа-опиоидных (КОР) и ноцицептиновых (НОР) рецепторов и их эндогенных лигандов может быть фактором риска увеличения добровольного потребления алкоголя. В работе также выявлены возможные сопряженные механизмы нарушений опиоидергической регуляции в мозге животных с растущим потреблением алкоголя, а именно, выраженное снижение уровня экспрессии гена дофаминового D1 рецептора в стриатуме и повышение экспрессии гена кортикотропин-релизинг-фактора (CRF) в миндалине. На основе полученных новых данных диссертантом сформулирована гипотеза о нарушении экспрессии генов динорфин/каппа-опиоидной и ноцицептиновой системы в мезолимбических областях мозга как факторе, определяющем рост потребления алкоголя, как показателе становления начальных стадиях алкогольной зависимости.

**Практическая и теоретическая значимость.** Научно-практическая значимость диссертации Шагиахметова Ф.Ш. определяется тем, что она вносит существенный вклад в недостаточно разработанную на сегодняшний день область, находящуюся на стыке патофизиологии, нейрохимии, молекулярной биологии и экспериментальной наркологии. Выявлен однонаправленный характер нарушений экспрессии генов каппа- и ноцицептин-рецепторных систем у животных, демонстрирующих рост добровольного потребления алкоголя в условиях свободного выбора между алкоголем и водой. Ф.Ш.Шагиахметов предполагает, что низкий уровень экспрессии, генов исследуемых опиоидных рецепторов и пептидов, наряду с низким уровнем экспрессии мРНК D1 дофаминового рецептора и высокой экспрессией мРНК кортикотропин-релизинг гормона (CRF) в миндалине могут представлять патогенетическую основу роста предпочтения алкоголя в ходе развития алкогольной зависимости. Эти данные имеют принципиальное значение для понимания фундаментальных молекулярных нейрохимических механизмов, определяющих феномен самостоятельного подкрепляющего действия алкоголя. Полученные автором данные указывают на функциональное сходство динорфин/КОР-рецепторной и ноцицептин/НОР-рецепторной систем, что имеет важное прикладное значение при разработке новых лекарственных средств для снижения потребления алкоголя.

**Достоверность и обоснованность результатов исследования.** Достоверность, полученных результатов базируется на исследовании достаточного репрезентативного объема фактического материала, а также его анализа на основе современных патофизиологических и молекулярно-генетических методов исследования. Данные обработаны с применением современных адекватных статистических методов. Выводы



и практические результаты логично вытекают из полученных результатов, соответствуют цели и поставленным задачам. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнения.

По результатам диссертационной работы опубликовано 7 научных работ, включая 3 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ, 1 статью в рецензируемом журнале, входящем в список Web of Science, и 3 тезисов докладов на конференциях. Публикации полностью соответствуют содержанию диссертационного исследования. Автореферат отражает основное содержание диссертации.

**Оценка содержания диссертации.** Диссертация Шагиахметова Ф.Ш. построена по традиционному принципу и состоит из «Введения», «Обзора литературы», «Материалов и методов исследования», «Результатов работы и их обсуждения», «Заключения», «Выводов» и «Списка литературы», изложена на 144 страницах, содержит 21 рисунок и 5 таблиц. Список литературы включает 361 источник из них 32 отечественных и 329 иностранных.

Во введении автор обосновывает актуальность проблемы, определяет цель и задачи работы, формулирует ее научную новизну и практическую значимость. Выдвинутые цель и задачи исследования, как и положения, выносимые на защиту, отражают суть проделанной работы.

Обзор литературы представляет критический анализ экспериментальных данных по изучаемой проблеме. Он хорошо иллюстрирован, материал представлен логично и последовательно. Важной частью обзора является раздел, посвященный существующим экспериментальным подходам к изучению алкогольной зависимости. Этот раздел представляет большой интерес для специалистов в области патофизиологии и экспериментальной наркологии. Автор подробно анализирует преимущества и недостатки различных экспериментальных подходов и обосновывает собственный выбор модели для выявления особенностей становления алкогольной мотивации, как стержневой основы алкогольной зависимости. Далее автор представляет краткий обзор данных о нейрохимических механизмах действия алкоголя и, опираясь на имеющиеся данные литературы о функциональном значении регуляции функций мозга эндогенными опиоидами, обосновывает выбор генов опиатной системы мозга для анализа их транскрипционной активности у животных с растущим потреблением алкоголя. В заключении автор резюмирует представленную в главе информацию, которая дает представление о современном состоянии проблемы и позволяет обосновать актуальность проведенного исследования.

Глава «Материалы и методы исследования» дает ясное представление об используемом автором подходе, дизайне эксперимента, методологии изучения

экспрессии генов, методах статистической обработки данных. Важно отметить, что используемый автором подход к формированию групп животных в модели «свободный выбор» нацелен на выявление особенностей аддиктивного поведения, не связанных с вкусовыми предпочтениями животных. В связи с этим, важным критерием при формировании экспериментальных групп оказался факт отсутствия достоверных различий в начальных показателях предпочтения алкоголя между группами. Протокол отбора животных в работе полностью соответствует поставленной цели исследования, детально проработан и косвенно отражает клиническую картину формирования патологического влечения к приему алкоголя у человека. Изучение экспрессии генов основано на современном методическом подходе, включающем выделение тотальной РНК, обратную транскрипцию и количественную ПЦР в реальном времени (RT-qPCR). В главе «Материалы и методы» дано подробное описание метода и всех этапов эксперимента, что важно для оценки достоверности полученных результатов и возможности их воспроизведения.

В главе «Результаты и обсуждение» автор последовательно решает поставленные задачи. В первом разделе проведен количественный анализ экспрессии мРНК опиоидных рецепторов и предшественников их эндогенных лигандов в мезолимбической системе мозга интактных животных, дана оценка соответствия распределения мРНК и плотности рецепторов согласно имеющимся данным литературы.

Во втором разделе представлены результаты трудоёмкой работы автора по отбору животных с одинаковым изначальным уровнем предпочтения алкоголя, но с различной динамикой его потребления во времени. Для оценки алкогольной мотивации животных использована модель: «свободный выбор» между 10% этанолом и водой. Увеличение количества потребляемого алкоголя в условиях «свободного выбора» автор рассматривает в качестве показателя роста предпочтения алкоголя на ранних этапах формирования экспериментальной алкогольной зависимости у животных.

Третий раздел посвящен изучению экспрессии генов опиоидной системы. У животных, увеличивших потребление алкоголя, обнаружены достоверно более низкие, по сравнению с животными с постоянно низким уровнем его потребления, показатели экспрессии мРНК продинорфина (pDyn) и проноцицептина (pNoc) в вентральном стриатуме и каппа- и ноцицептинового рецепторов и продинорфина в миндалинах мозга. Важно, что уровень мРНК продинорфина каппа- и ноцицептинового рецепторов отрицательно коррелировал с показателями потребления алкоголя. Автор справедливо предполагает, что наблюдаемые изменения могут быть связаны с нарушением и вышестоящих механизмов регуляции самих опиоидергических систем мозга. Далее



автор показывает, что описанные ранее нарушения наблюдаются на фоне сниженной экспрессии мРНК D1 рецептора в стриатуме и повышенной экспрессии мРНК кортикотропин-релизинг фактора (CRF) в миндалине мозга. Выявленные автором изменения позволяют предполагать, что низкий уровень экспрессии D1 и высокий уровень экспрессии CRF могут представлять дополнительный фактор, определяющим рост предпочтения потребления алкоголя.

Полученные в работе данные говорят об идентичном характере различий в экспрессии генов каппа-опиоидной и ноцицептиновой систем между исследованными группами животных и целесообразности сочетанного фармакологического воздействия на KOR и NOP рецепторы при лечении алкоголизма, особенно на ранних этапах его формирования у человека.

Раздел «Заключение» подводит итог проведенным исследованиям, обобщает полученные результаты. Таким образом, исследование Шагиахметова Ф.Ш. расширяет представление о механизмах развития алкогольной зависимости и, несомненно, представляет как фундаментальный, так и практический интерес для патологической физиологии и наркологии. В работе на экспериментальных биологических моделях получены новые данные о возможных механизмах развития алкогольной зависимости, которые могут быть включены в учебные материалы кафедр патофизиологии и наркологии медицинских ВУЗов, образовательные курсы и программы повышения квалификации для врачей широкого профиля.

Выводы диссертации аргументированы, соответствуют полученным данным, целям и задачам исследования.

#### **Вопросы и замечания.**

Считаете ли Вы, что предполагаемый Вами синергизм каппа-опиоидной и ноцицептинергической систем в регуляции мотивационно-подкрепляющих отношений при алкогольной зависимости может проявляться и при других формах зависимого поведения? Можно ли предполагать, что предполагаемый Вами синергизм этих двух систем, является фактором, определяющим свойство устойчивости, характерное для аддиктивного поведения вообще?

Требует также разъяснения вопрос, из каких соображений Вы вынесли в отдельный раздел работы по определению уровня экспрессии генов MOR, DOR, KOR, NOP рецепторов и опиоидных пептидов – продинорфина и проноцицептина в структурах мезолимбической системы интактных животных, а не взяли эту группу животных в качестве третьей в Вашем основном эксперименте?

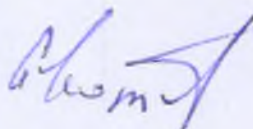
**Заключение.** Диссертационная работа Фариды Шамилевича Шагиахметова «Нарушение экспрессии генов опиоидной системы мозга в патогенезе

экспериментальной алкогольной зависимости», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности патологическая физиология - 14.03.03, является самостоятельно выполненной и завершенной научно-квалификационной работой, содержащей решение актуальной задачи выявления особенностей экспрессии генов опиоидной мезолимбической системы головного мозга в формировании предпочтения алкоголя на начальных этапах становления алкогольной зависимости..

По своей научной и практической значимости, методическому уровню, новизне полученных результатов диссертационная работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, с изменениями от 01.10.2018г. № 1168, предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03. – патологическая физиология.

**Официальный оппонент:**

Заведующий лабораторией  
физиологии мотиваций,  
главный научный сотрудник  
ФГБНУ «НИИ нормальной  
физиологии им. П.К.Анохина»  
доктор медицинских наук,  
профессор



Котов А.В.

Котов Александр Владимирович : 125315, Москва, Балтийская ул. 8

e-mail: lab\_motiv@mail.ru

Телефон: 8-499-231-00-47

Подпись А.В.Котова заверяю

«14» ноября 2020 г.

Зав. директора ФГБНУ  
"НИИ нормальной физиологии  
им. П.К.Анохина"  
З.И. Котлов, д.м.н., профессор



Терцов С.С.