

## ОТЗЫВ

члена диссертационного совета на диссертацию Ереско Сергея Олеговича на тему: «Нейрохимический и фармакологический анализ системы toll-подобных рецепторов головного мозга крыс при действии этанола», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.4., Биохимия, 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

### **Актуальность, степень разработанности темы, цели и задачи исследования**

Одной из острых медико-биологических проблем является изучение длительного воздействия алкоголя на функциональную активность систем мозга, в том числе на нейроиммунные процессы в нем, что в значительной степени предопределяет развитие нейродегенеративных процессов в различных отделах мозга, а также усиление процессов нейровоспаления, оксидативного стресса и стресса эндоплазматического ретикулума в нейронах и глиальных клетках. Имеются данные о ключевой роли в развитии нарушений ЦНС в условиях алкоголизации иммунокомпетентных систем, включающих toll-подобные рецепторы различных типов, экспрессия и сигнальные пути которых существенно меняются в процессе алкоголизации. Более того, в настоящее время формируется концепция нейровоспалительной теории развития алкоголизма, суть которой заключается в том, что патогенез алкоголизма тесно взаимосвязан с активацией генов, кодирующих основные компоненты системы врожденного иммунитета. Однако эта концепция базируется преимущественно на данных, полученных в отношении структур коры головного мозга. Кроме того, в настоящее время имеется крайне мало данных о возможности фармакологической коррекции нарушений нейроиммунных процессов в мозге и ослабления нейровоспаления в условиях хронического воздействия алкоголя. Все это послужило отправной точкой для диссертационной работы Ереско С.О., целью которой стало изучение динамики экспрессии генов системы toll-подобных рецепторов в различных структурах головного мозга у крыс в условиях их хронической алкоголизации, отмены этанола, а также на фоне фармакотерапии. При этом автор решал четыре конкретных задачи исследования, которые состояли: (1) в изучении динамики экспрессии генов системы toll-подобных рецепторов в различных структурах головного мозга (гиппокамп, энторинальная кора, стриатум, миндаля) крыс при хронической алкоголизации и в условиях отмены этанола, (2) в изучении динамики экспрессии генов цитокинов (Il-1b, Ccl2) в этих структурах мозга, а также в выявлении взаимосвязей между экспрессией TLR3/4/7 и

экспрессией этих цитокинов Il-1b и Ccl2 в тех же условиях алкоголизации животных, (3) в изучении в этих же условиях экспрессии лигандов toll-подобных рецепторов в различных структурах головного мозга и (4) в изучении эффектов рифампицина и гинзенозидов на экспрессию генов системы этих рецепторов в прилежащем ядре и гиппокампе.

### **Научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследования**

В результате проведенных исследований Ереско С.О. получил следующие принципиально новые результаты.

В ходе исследований впервые изучена экспрессия генов системы toll-подобных рецепторов в различных структурах мозга у крыс с хронической алкоголизацией и на разных сроках отмены этанола и продемонстрированы (1) отсутствие значимых различий экспрессии генов Tlr3, Tlr4 и Tlr7 в ходе алкоголизации и (2) разнонаправленные изменения экспрессии этих генов при отмене этанола. При этом получены данные о том, что степень выявленных изменений определяется сроком после отмены этанола и областью мозга, а также зависит от продолжительности и концентрации вводимых доз этанола. Впервые показаны изменения в других генах системы toll-подобных рецепторов, кодирующих адаптерные белки, транскрипционные факторы и про- и противовоспалительные цитокины. Разработан новый фармакологический подход, направленный на коррекцию обусловленных длительным воздействием этанола молекулярных нарушений в системе toll-подобных рецепторов в гиппокампе и прилежащем ядре, ключевых областях мозга для формирования алкогольной зависимости. В основе этого подхода лежит применение гинзенозидов женьшеня и рифампицина, способных восстановить уровень экспрессии ряда генов системы toll-подобных рецепторов.

Теоретическая значимость проведенного Ереско С.О. исследования обусловлена обоснованием непосредственного участия системы toll-подобных рецепторов в патогенетических механизмах, индуцируемых как при длительном воздействии этанола, так и при его отмене, в таких структурах мозга, как стриатум, прилежащее ядро, гиппокамп, миндалевидное тело, энторинальная кора. Практическая значимость работы состоит в разработке подхода для предотвращения этих механизмов и обусловленных ими процессов нейродегенерации и нейровоспаления путем применения гинзенозидов женьшеня и рифампицина, мишенями которых являются компоненты TLR-системы и действие которых, соответственно, обусловлено иммуномодулирующим эффектом этих препаратов. Говоря шире, результаты работы демонстрируют важность и валидность системы toll-подобных рецепторов, как новой мишени для фармакологической коррекции хронической

алкоголизации и предотвращения синдрома отмены этанола, что крайне важно для клиники и реабилитации пациентов с алкогольной зависимостью.

### **Методы исследования, основные результаты работы, ее апробация**

Для проведения исследований Ереско С.О. использовал широкий спектр современных биохимических, фармакологических и молекулярно-биологических методов, а также подходы экспериментальной медицины, что позволило осуществить исследование на высоком методическом уровне. Автор обоснованно использует современные методы статистической обработки полученных данных, значительные выборки животных, что указывает на надежность и воспроизводимость полученных результатов и сделанных на их основе выводов.

В результате были получены следующие основные результаты. Впервые показано, что экспрессия гена Tlr3 не изменена в таких исследованных структурах мозга, как стриатум, прилежащее ядро, миндалевидное тело, энторинальная кора, за исключением небольшого снижения в гиппокампе, а экспрессия генов Tlr4 и Tlr7 не изменена ни в одной из этих структур мозга. При этом имеются разнонаправленные изменения экспрессии этих генов при отмене воздействия этанола на разных сроках. Впервые установлено, что при отмене воздействия этанола, ряд других генов системы toll-подобных рецепторов, включая гены эндогенных агонистов, адаптерных белков, транскрипционных факторов, про- и противовоспалительных цитокинов, также испытывают изменения в исследованных структурах мозга. Впервые показано, что мишенями рифампицина и гинзенозидов женьшеня, оказывающих положительное, противовоспалительное, воздействие на структуры мозга в условиях хронического воздействия этанола, в гиппокампе и прилежащем ядре могут быть компоненты системы toll-подобных рецепторов. Совокупность этих данных указывает на вовлеченность системы toll-подобных рецепторов в патогенетические механизмы, индуцированные хронической алкоголизацией в эмоциогенных и двигательных структурах головного мозга.

По результатам проведенных исследований Ереско С.О. опубликовал 19 научных работ, включая пять статей, входящих в список ВАК и реферируемых в ведущих отечественных и международных базах данных. Наряду с этим, полученные в ходе исследования материалы неоднократно представлялись на отечественных и международных конференциях. Это указывает на высокую степень апробации и обсуждения полученных в диссертационной работе научных результатов.

### **Личный вклад автора**

Ереско С.О. самостоятельно планировал дизайн работы и отдельных экспериментов, проводил биохимические и фармакологические исследования, осуществлял обработку полученных данных. Автор полностью осуществлял статистическую обработку данных, участвовал в написании научных статей и неоднократно представлял результаты своих исследований, выступая с устными и стендовыми докладами на международных и российских конференциях.

### **Вопросы и замечания по диссертации**

Диссертационная работа написана хорошим научным языком, грамотно оформлена, включая качественно выполненные рисунки, и не вызывает существенных замечаний по форме, способу изложения или содержанию. Тем не менее, по итогам ознакомления с диссертацией, возникает ряд вопросов, которые, однако, не влияют на общее положительное впечатление от диссертационной работы Ереско С.О.

1. Автор впервые показал крайне интересные и разнонаправленные изменения для различных типов toll-подобных рецепторов в различных отделах мозга при отмене алкоголя. При этом им было установлено, что в амигдале и гиппокампе в разные сроки после отмены алкоголя изменения экспрессии генов Tlr3, Tlr4 и Tlr7 имеют сходный паттерн, в то время как в стриатуме и энторинальной коре они сильно различаются. В качестве примера – на 14-й день отмены алкоголя экспрессия гена Tlr3 значительно повышается, гена Tlr4 – существенно не меняется, а гена Tlr7 – значительно снижается. С учетом различного функционального паттерна toll-подобных рецепторов было бы крайне интересным сделать акцент именно на изменении этих соотношений, а соответственно и на перераспределении потенциальных регуляторных путей, реализуемых через различные типы этих рецепторов. Здесь уместно указать и на возможное влияние таких рецептор-специфичных изменений на состав гетеродимеров, образуемых Toll-подобными рецепторами. В таком контексте в диссертации анализ не проводился. Какую роль, с точки зрения автора, могут иметь выявленные им (хотя и не рассчитанные) изменения соотношения экспрессии генов toll-подобных рецепторов (в динамике отмены этанола)? Как эти соотношения меняются при исследуемой автором фармакотерапии?
2. Автор исследовал экспрессию агонистов toll-подобных рецепторов, которая также менялась в зависимости от срока отмены этанола. Так, например, на 14-й день отмены в стриатуме экспрессия гена Hmgb1 существенно возрастала. Поскольку система лиганд–

рецептор функционирует согласованно, но имело бы смысл проанализировать изменения экспрессии генов агонистов toll-подобных рецепторов и их лигандов (белок HMGB1, различные типы микроРНК) не изолированно, а как соотношения между экспрессией генов лиганда и его рецептора. В случае гена Hmgb1 – это соотношение его экспрессии и экспрессии гена Tlr4 (это единственный рецептор из изученных автором, с которым специфично связывается белок HMGB1 в мономерном состоянии). То же в отношении микроРНК, которые не только сами способны активировать различные типы toll-подобных рецепторов, но и в комплексе с белком HMGB1 меняют его специфичность (комплекс HMGB1-miR-let-7 потенциально способен активировать TLR7). Что автор думает по этому поводу?

3. В работе имеются неудачные выражения и опечатки и, хотя они не влияют на общее восприятие материала, автору необходимо их избегать.

#### **Заключение**

С учетом всего вышесказанного полагаю:

Содержание диссертации Ереско Сергея Олеговича на тему: «Нейрохимический и фармакологический анализ системы toll-подобных рецепторов головного мозга крыс при действии этанола», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук, соответствует научным специальностям 1.5.4, Биохимия, и 3.3.6, Фармакология, клиническая фармакология.

Диссертация Ереско Сергея Олеговича на тему: «Нейрохимический и фармакологический анализ системы toll-подобных рецепторов головного мозга крыс при действии этанола» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи по исследованию патогенетических молекулярных механизмов развития нейровоспаления в условиях хронической алкоголизации и после отмены этанола, включающих индуцированные этанолом нарушения функционирования системы toll-подобных рецепторов в различных отделах головного мозга, а также по разработке фармакологических подходов для коррекции этих нарушений и предотвращения нейровоспаления, она имеет большое значение для развития биохимии и фармакологии социально-значимых заболеваний нервной системы и открывает перспективы для поиска и разработки новых перспективных лекарственных препаратов для лечения хронической алкогольной интоксикации и алкогольной зависимости, что имеет существенное значение для развития РФ.

Нарушений пунктов 9, 11 Порядка присуждения Санкт-Петербургским государственным университетом ученой степени кандидата наук, ученой степени доктора наук соискателем ученой степени мною не установлено.

Диссертация соответствует критериям, которым должны отвечать диссертации на соискание ученой степени кандидата наук, установленным приказом от 19.11.2021 № 11181/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете» и рекомендована к защите в СПбГУ.

Член диссертационного совета,  
доктор биологических наук,  
заместитель директора по научной работе,  
заведующий лабораторией молекулярной эндокринологии и нейрехимии  
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук (ИЭФБ РАН)

Шпаков Александр Олегович

«07» ноября 2024 г.

Подпись д.б.н. Шпакова А.О. заверяю

Ученый секретарь, к.б.н.



Гальперина Е.И.