

27 марта 2017 г.

Протокол № 2

Председатель совета – д.б.н., профессор А.А. Каменский

Ученый секретарь – д.б.н. Б.А. Умарова

**Повестка дня:** Защита кандидатской диссертации Анохина Петра Константиновича на тему: **ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ДОФАМИНОВОЙ СИСТЕМЫ МОЗГА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АЛКОГОЛИЗМЕ И ПУТИ ЕЕ РЕГУЛЯЦИИ АГОНИСТОМ ДОФАМИНОВЫХ D2-РЕЦЕПТОРОВ** по специальностям 03.03.01. – физиология, 03.01.04 – биохимия.

**Научные руководители:**

Наталья Николаевна Нинкина – д.м.н., заведующая лабораторией генетического моделирования нейродегенеративных процессов Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт физиологически активных веществ» Российской академии наук

Вячеслав Альбертович Дубынин – д.б.н., профессор кафедры физиологии человека и животных Биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова»

**Присутствовали:** А.А. Каменский, А.В. Латанов, Б.А. Умарова, О.П. Балезина, Г.С. Воронков, В.А. Дубынин, А.Н. Иноземцев, А.Я. Каплан, В.М. Ковальзон, Н.А. Медведева, А.С. Пивоваров, И.И. Полетаева, В.Б. Полянский, О.В. Смирнова, Н.А. Соколова, В.В. Шульговский, Л.А. Ляпина, И.А. Гривенников, А.М. Рубцов (19 человек). Из них 8 докторов наук по специальности 03.03.01 – физиология, 3 доктора наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

**Слушали:** Доклад соискателя Анохина Петра Константиновича, отзыв научного руководителя д.б.н., Дубынина Вячеслава Альбертовича, отзыв ведущей организации (Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»), отзывы оппонентов – Островской Риты Ушеровны, д.м.н., проф., главного научного сотрудника лаборатории психофармакологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии им. В.В. Закусова» и Медведева Алексея Евгеньевича – д.б.н., проф., заведующего лабораторией фармакопротеомики Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»

**Постановили:**

1. Признать диссертационную работу Анохина Петра Константиновича на тему **ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ДОФАМИНОВОЙ СИСТЕМЫ МОЗГА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АЛКОГОЛИЗМЕ И ПУТИ ЕЕ РЕГУЛЯЦИИ АГОНИСТОМ ДОФАМИНОВЫХ D2-РЕЦЕПТОРОВ** соответствующей критериям, установленным Положением о присуждении ученых степеней, утвержденным постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 №842.
2. Присудить Анохину Петру Константиновичу ученую степень кандидата биологических наук по специальностям 03.03.01 – физиология, 03.01.04 – биохимия.
3. Принять заключение диссертационного совета Д 501.001.93 при МГУ имени М.В. Ломоносова по диссертации Анохина Петра Константиновича, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук.
4. Направить в Минобрнауки РФ первый экземпляр аттестационного дела Анохина Петра Константиновича.

Голосование:

«за» присуждение ученой степени - 19, против – нет, недействительных бюллетеней – нет

Председатель совета

*А.А. Каменский*

д.б.н., профессор А.А. Каменский

Ученый секретарь совета

*Б.А. Умарова*

д.б.н. Б.А. Умарова

Ученый секретарь биологического факультета МГУ

Е.В Петрова



19  
ПРОТОКОЛ № 2

заседания счетной комиссии, избранной диссертационным советом

Д 501.001.93

от "24" марта 20 17 г.

Состав избранной комиссии Ворошилов Т.С.,  
Мноземцев А.М., Смирнова О.В.  
(фамилия, и., о.)

Комиссия избрана для подсчета голосов при тайном голосовании по вопросу о присуждении

Анохиму Петру Константиновичу  
(фамилия, и., о.)

ученой степени ~~доктора~~ (кандидата) биологических наук

Состав диссертационного совета утвержден в количестве 22 человек на срок действия номенклатуры специальностей.

В состав совета дополнительно с правом решающего голоса введены 3 членов.

Присутствовало на заседании 19 членов совета, в том числе докторов по профилю рассматриваемой диссертации 8 (03.03.01 - зоология)  
3 (03.01.04 - биохимия)

Роздано бюллетеней 19

Осталось не розданных бюллетеней 6

Оказалось в урне бюллетеней 19

Результаты голосования по вопросу о присуждении ученой степени доктора (кандидата) биологических наук

Анохиму Петру Константиновичу  
(фамилия, и., о.)

За 19

Против нет

Недействительных бюллетеней нет

Председатель счетной комиссии Трофеев

Члены комиссии Сидорова

Ученый секретарь совета

Ученый секретарь биологической ф-ты МГУ



(Умарова Б.А.)

(Тетрова Е.В.)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 501.001.93 НА БАЗЕ  
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ  
М.В. ЛОМОНОСОВА» ПО ДИССЕРТАЦИИ  
НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 27.03.2017 № 2

О присуждении Анохину Петру Константиновичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Экспрессия генов дофаминовой системы при экспериментальном алкоголизме и пути ее регуляции агонистом дофаминовых D2-рецепторов» по специальностям 03.03.01 – «физиология», 03.01.04 – «биохимия» принята к защите «20» января 2017 г., протокол № 3, диссертационным советом Д 501.001.93 на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» (119991, Москва, Ленинские горы, д. 1), созданным приказом Рособнадзора от 01.04.2011 № 818 - 83, срок полномочий совета установлен на период действия номенклатуры специальностей.

**Соискатель Анохин Петр Константинович** 1991 года рождения. В 2013 году соискатель окончил биологический факультет Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» по специальности «физиология». С 17.07.2013 по 17.07.2016 г соискатель обучался в очной аспирантуре при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Институт физиологически активных веществ» Российской академии наук. С 05.05.2015 по настоящее время работает в ФГБУ «Федеральный медицинский исследовательский центр

психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского» Минздрав России младшим научным сотрудником. Диссертация выполнена в лаборатории генетического моделирования нейродегенеративных процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт физиологически активных веществ» Российской академии наук.

**Научные руководители:**

Доктор медицинских наук Нинкина Наталия Николаевна, заведующая лабораторией генетического моделирования нейродегенеративных процессов Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт физиологически активных веществ» Российской академии наук.

Доктор биологических наук Дубынин Вячеслав Альбертович, профессор кафедры физиологии человека и животных Биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова».

**Официальные оппоненты:**

Островская Рита Ушеровна; гражданка Российской Федерации; доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории психофармакологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии им. В.В. Закусова»;

Медведев Алексей Евгеньевич; гражданин Российской Федерации; доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией фармакопротеомики Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» –

дали положительные отзывы о диссертации.

**Ведущая организация** Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно –исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» г. Москва, в своём положительном заключении, подписанном Панченко Леонидом Федоровичем, заведующим лабораторией молекулярных основ зависимости ФГБНУ «Научно-исследовательский

институт общей патологии и патофизиологии», доктором медицинских наук, профессором, академиком РАН и Давыдовой Татьяной Викторовной, главным научным сотрудником лаборатории общей и перинатальной нейроиммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», доктором медицинских наук, указала, что диссертация П.К. Анохина является комплексным исследованием и посвящена решению актуальной и важной задачи – изучению фундаментальных механизмов регуляции функций дофаминовой системы мозга в норме и патологии и поиску новых фармакологических мишеней для разработки методов патогенетической терапии алкогольной зависимости. Полученные соискателем данные можно охарактеризовать как имеющие фундаментально-прикладной характер.

Проведенный в работе анализ изменения экспрессии мРНК ключевых белков дофаминовой системы у хронически алкоголизированных животных позволил получить новые фундаментальные знания, необходимые для понимания патогенетических основ формирования алкогольной зависимости. На основании этих данных высказана и проверена оригинальная идея использования новых фармакологических средств лечения алкогольной зависимости, основанных на активации дофаминовых D2-рецепторов мозга. Важно, что в работе впервые предложена стратегия поиска препаратов, основанная на их способности долговременно модулировать функции нейромедиаторных систем мозга на уровне экспрессии генов, кодирующих ключевые белки этих систем.

Достоверность полученных результатов обеспечена использованием современных средств и методов проведения исследований, применением адекватных методов документирования результатов, математического аппарата и программного обеспечения для статистической обработки данных, достаточным объемом материала исследования, объективным характером его анализа.

В заключении ведущая организация отмечает, что диссертационная работа П.К. Анохина является законченной научно-квалификационной работой и по актуальности темы исследования, методическому уровню,

новизне и практической значимости полученных результатов, обоснованности и достоверности положений, выводов и рекомендаций полностью соответствует требованиям п.9 действующего Положения «О порядке присуждения ученых степеней» №842 от 24 сентября 2013 г. № 74, а ее автор Анохин Петр Константинович заслуживает присуждения ученой степени кандидата наук по специальностям 03.03.01 – физиология и 03.01.04 – биохимия. Ответы на вопросы, содержащиеся в отзыве ведущей организации, представлены в стенограмме.

**Соискатель имеет** 18 опубликованных работ, из них по теме диссертации опубликовано 11 работ общим объемом 46 страниц, в том числе 4 статьи в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертаций. 7 работ опубликовано в материалах Всероссийских и международных конференций и симпозиумов. При подготовке указанных печатных работ вклад Анохина П.К. заключался как в выполнении экспериментальной части работы, так и в анализе литературных данных и непосредственной подготовке самого текста публикаций.

**Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:**

1. Анохин П.К., Шагиахметов Ф.Ш., Проскурякова Т.В., Шамакина И.Ю. Алкогольная интоксикация в подростковом периоде: экспериментальное исследование // Вопросы наркологии - 2016. - №3. - С. 40-54.
2. Анохин П.К., Т.В. Проскурякова Т.В., Шамакина И.Ю., Устюгов А.А., Бачурин С.О. Сравнительный анализ экспрессии мРНК  $\alpha$ -синуклеина в мозге крыс с различным уровнем потребления алкоголя // Нейрохимия. - 2016. – Т.33, №4. - С.1-7.
3. Anokhin P., Proskuryakova T., Ulyanova E., Shokhonova V., Anokhina I., Shamakina I. Cabergoline regulates alcohol consumption and expression of dopamine related genes in the midbrain of rats with chronic alcohol intoxication // European Neuropsychopharmacology. - Vol. 26. - S668-S669.

4. Анохин П.К., Шамакина И.Ю., Проскуракова Т.В., Шохорова В.А., Ульянова Е.В., Тарабарко И.Е., Анохина И.П. Селективный агонист дофаминовых D2-рецепторов каберголин снижает потребление алкоголя и повышает экспрессию гена DRD2 в мозге у крыс с хронической алкогольной интоксикацией // *Нейрохимия*. – 2017 - Т.34, №1. - С. 1-8.

**На диссертацию и автореферат поступили отзывы** от д.м.н., профессора, заведующего отделом аддиктологии ФГБУ «СПб НИПНИ им В.М. Бехтерева» Минздрава России Е.М. Крупицкого; к.б.н., научного сотрудника лаборатории молекулярных основ регуляции поведения ФГБУН «Института молекулярной генетики» РАН Е.А. Себенцовой; к.б.н., старшего научного сотрудника лаборатории нейрофизиологии и обучения «Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии» РАН Ю.В. Добряковой; к.б.н., старшего научного сотрудника лаборатории Экстремальной физиологии ФГБУН «Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем» РАН В.С. Кохана, к.б.н. ведущего научного сотрудника, руководителя лаборатории доклинических исследований Всероссийского научного центра молекулярной диагностики и лечения Г.Г. Барсегяна. Все отзывы положительные; авторы отмечают, что диссертация Анохина П.К. соответствует требованиям, предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

**Выбор официальных оппонентов и ведущей организации** обосновывается тем, что специалисты, давшие свои заключения по представленной диссертационной работе П.К. Анохина, являются ведущими учеными в области физиологии, биохимии и нейрофармакологии, их исследования связаны с изучением механизмов регуляции функций мозга в норме и патологии, в частности, роли дофаминовой системы мозга в патогенезе нейродегенеративных заболеваний и болезней зависимости. Это подтверждается предоставленными ими сведениями и списком основных научных публикаций в рецензируемых научных изданиях.

Диссертационный совет Д 501.001.93 на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего

образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» считает, что выбранные официальные оппоненты и ведущая организация дали квалифицированные отзывы и авторитетную оценку диссертационной работе П.К. Анохина.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

**Разработан** новый подход к оценке эффективности фармакотерапии алкогольной зависимости, основанный на изучении долговременной модуляции препаратами уровня экспрессии генов ключевых белков центральной нервной системы.

**Предложена** оригинальная научная гипотеза, свидетельствующая о том, что дофаминовые D2-рецепторы могут являться мишенью для терапии алкогольной зависимости

**Доказано**, что агонист дофаминовых D2-рецепторов каберголин снижает потребления алкоголя и повышает уровень экспрессии генов ключевых белков, контролирующих мезолимбическое звено дофаминовой системы.

**Теоретическая значимость исследования** обоснована тем, что в исследовании изложены факты о росте потребления алкоголя у животных с низким уровнем экспрессии мРНК постсинаптических дофаминовых рецепторов, что указывает на них как на наиболее уязвимое звено мезолимбической дофаминовой системы мозга при действии алкоголя. Впервые изучены связи ряда синаптических белков, ранее исследованных в связи с патогенезом нейродегенеративных ( $\alpha$ -синуклеин) и психических заболеваний (белки SNARE-комплекса), с развитием алкогольной зависимости. Полученные данные выявляют ряд новых проблем, связанных с функциями этих белков в норме и патологии, а также с задачами фармакологической коррекции их нарушений, которые требуют дальнейших исследований.

**Применительно к проблематике диссертации результативно использован** комплекс современных методов: экспериментальные модели формирования и оценки алкогольной зависимости (свободный выбор и

принудительная алкоголизация), методы изучения поведения (тест «предпочтение места», «темная-светлая камеры», Activiscope), исследование экспрессии генов методом ПЦР в реальном времени.

**Изложены** основные положения, а также приведены экспериментально обоснованные доказательства снижения экспрессии генов ряда ключевых белков, контролирующих мезолимбическое звено дофаминовой системы мозга.

**Изучены** эффекты агониста дофаминовых D2-рецепторов каберголина на потребления алкоголя крысами, их поведение и уровни экспрессии ключевых белков, контролирующих мезолимбическое звено дофаминовой системы мозга, а так же оценено потенциальное наличие собственного подкрепляющего действия.

**Раскрыта** взаимосвязь между уровнями экспрессии мРНК ключевых белков, контролирующих мезолимбическое звено дофаминовой системы мозга, и уровнем потребления алкоголя у крыс.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики** подтверждается тем, что в работе представлена и экспериментально обоснована идея использования лекарственных средств, активирующих дофаминовые D2-рецепторы мозга, для терапии алкогольной зависимости. Определены перспективы использования агониста D2-дофаминовых рецепторов каберголина, применяемого при лечении болезни Паркинсона и гиперпролактинемии, для снижения потребления алкоголя. Представлены первые доказательства эффекта каберголина на экспрессию генов, определяющих функции мезолимбической дофаминовой системы, что служит основанием для дальнейших исследований этого класса препаратов как перспективных средств лечения болезней зависимости. Материалы диссертации могут быть использованы при чтении лекций по биохимии и физиологии в университетах и медицинских вузах, а результаты данного диссертационного исследования - в научно-исследовательской работе профильных институтов.

**Оценка достоверности результатов исследования** выявила, что она обеспечена достаточным объемом экспериментального материала – 138 крыс в

биохимических и поведенческих исследованиях. Для моделирования хронической алкоголизации в работе использована экспериментальная методика «свободного выбора», эффективность которой доказана многочисленными исследованиями и ранее опубликованными данными. Результаты получены с помощью сертифицированного оборудования, включая автоматизированные системы мониторинга суточной двигательной активности, оценки поведения в новой среде, тревожности и поведения «предпочтение места», современной аппаратуры для измерения ПЦР в реальном времени. Достоверность данных ПЦР обеспечена строгим контролем целостности РНК, специфичности ПЦР продукта, адекватным выбором референсного гена, проведением реакции не менее чем в 3-х параллельных образцах, применением адекватного метода сравнения уровня экспрессии в опыте и контроле ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ). Для проверки нормальности распределения данных использовали тест Колмогорова-Смирнова. Для оценки достоверности использовали двухфакторный дисперсионный анализ (two-way ANOVA) для повторных измерений с последующим post-hoc анализом, t-критерий Стьюдента, критерий Манна-Уитни.

**Теория построена** на анализе данных о роли дофаминовой системы мозга в регуляции поведения, процессов «подкрепления», дисфункции дофаминовой мезолимбической системы при развитии алкогольной зависимости, в частности, снижении плотности постсинаптических дофаминовых рецепторов у больных алкоголизмом. Полученные результаты согласуются с опубликованными ранее научными работами авторов и интерпретируются в рамках существующих общих теорий.

**Идея базируется** на полученных и статистически обработанных собственных фактических данных в соответствии с целью и задачами исследования.

**Использованы** обширные оригинальные результаты, полученные автором в ходе исследовательской работы. Проведен углубленный сравнительный анализ результатов автора с современными литературными данными по исследуемой проблеме.

**Установлено** качественное совпадение авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике, в тех случаях, когда такое сравнение является обоснованным.

**Использованы** современные методы сбора и статистической обработки полученных результатов.

**Личный вклад соискателя** состоит в непосредственном проведении сбора и анализа научной литературы, формулировании цели и задач исследования, определении объектов и объема работы, проведении поиска методов и их обосновании для решения поставленных задач, выполнении необходимого объема исследований, статистической обработке, обобщении и анализе полученных данных, подготовке публикаций по теме диссертации и личном участии в апробации результатов исследования.

**В диссертации содержатся достоверные сведения об основных научных результатах**, которые изложены в опубликованных соискателем ученой степени работах.

Диссертационный совет пришел к выводу о том, что **рассматриваемая диссертация представляет собой научно-квалификационную работу, которая охватывает основные вопросы поставленной научной задачи и соответствует критерию внутреннего единства**, что подтверждается наличием последовательного плана проведения исследований, непротиворечивостью методологической платформы, последовательностью основной идейной линии работы и четкой взаимосвязью полученных выводов, а также содержит решение задач, имеющих значение для развития отечественной физиологии и медицины, и которая соответствует требованиям, установленным пунктом 9 Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842. На заседании 27.03.2017 г. диссертационный совет принял решение присудить Анохину Петру Константиновичу ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 8 докторов наук по специальности 03.03.01 – «физиология» и 3 докторов наук по специальности 03.01.04 – «биохимия»,

участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета (3 человека дополнительно введены на разовую защиту) проголосовали: за присуждение учёной степени – 19, против присуждения учёной степени – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель  
диссертационного совета  
д.б.н., проф.

А.А. Каменский

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
д.б.н.

Б.А. Умарова

Ученый секретарь  
биологического факультета  
МГУ имени М.В. Ломоносова

Е.В. Петрова

Декан биологического факультета  
МГУ имени М.В. Ломоносова,  
академик

М.П. Кирпичников



Дата оформления заключения:

03.04.2017