

ФМБА РОССИИ

«УТВЕРЖДАЮ»

**Федеральное
государственное бюджетное учреждение
«Федеральный научно-клинический центр
физико-химической медицины
имени академика Ю.М. Лопухина
Федерального медико-биологического
агентства»
(ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина
ФМБА России)**

119435, Москва, ул.Малая Пироговская, д.1А
Тел. (499) 246-77-21 Факс (499) 246-44-09
<http://www.rcpcm.org>, e-mail: niifhm@fmbamail.ru

30.08.2023 № 1349

На № _____ от _____

ВРИО Генерального директора
Федерального государственного
бюджетного учреждения
«Федеральный научно-клинический
центр физико-химической медицины
имени академика Ю.М. Лопухина
Федерального медико-биологического
агентства» доктор биологических
наук, доцент

В.Н. Лазарев



«30» августа 2023 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина Федерального медико-биологического Агентства» о научно-практической ценности диссертации Заботиной Анны Михайловны «Роль рецептора серотонина 2А в патогенезе расстройств шизофренического спектра и прогнозе антипсихотической терапии», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Актуальность темы диссертации

Актуальность диссертационной работы Заботиной Анны Михайловны обусловлена необходимостью поиска биомаркеров развития расстройств шизофренического спектра (РШС) и прогноза терапии антипсихотическими препаратами. В последние годы в психиатрии осуществлялись попытки решения проблемы прогностической оценки терапевтической чувствительности к препаратам антипсихотического ряда, а также обсуждались проблемы безопасности их использования, однако широкого применения в клинической практике биомаркеры терапии психических расстройств так и не получили, из-за низкой клинической чувствительности и специфичности.

Большинство подобных исследований было сосредоточено на оценке роли полиморфных вариантов генов, белки которых задействованы в фармакокинетике и фармакодинамике антипсихотических препаратов или вовлечены в патогенез заболевания. Полигенный вариант наследования, характерный для всех психических патологий, сам по себе оказывает незначительное влияние на формирование заболевания и только в

комбинации с другими предрасполагающими факторами и средовым воздействием проявляет значительный фенотипический эффект. Кроме того, выяснение вклада каждого гена в фенотип осложняется наличием межгенных взаимодействий (эпистаз, плейотропность и т.п.) и взаимодействием окружающей среды на экспрессию генетического потенциала.

В настоящее время биохимические критерии выбора тактики антипсихотической терапии отсутствуют, когда как именно фенотипические маркеры (нарушение работы ферментов, клеточных элементов (секреция, сигналинг); изменение количества белков, клеточных органелл и т.п.) могут иметь большую прогностическую силу.

Рецептор серотонина 2A (5-HT_{2A}) является мишенью действия атипичных антипсихотиков и антидепрессантов. Несмотря на многочисленные исследования, посвященные изучению модулирования 5-НТ сигналинга фармпрепаратами, и позитивные клинические ассоциации, влияние количества белка, уровня экспрессии гена и вариантов сплайсинга *HTR2A* на серотонинергическую нейротрансмиссию при приеме антипсихотических препаратов остается до конца неясной. Однако, определенно известно, что изоформы белка могут отличаться по функциональным свойствам и влиять как на степень аффинности рецептора к фармакологическому препарату, так и на эффективность работы рецептора (проведение сигнальной трансдукции), что, в свою очередь, может модулировать эффективность терапевтического воздействия.

Таким образом, определение биохимических (молекулярно-генетических) характеристик рецептора серотонина 2A, которые несложно проанализировать в современной лаборатории в качестве биомаркеров развития РШС и прогноза терапии является актуальной задачей.

Научная новизна

Определенно известно, что развитие психических патологий и расстройств поведения ассоциировано с нарушением плазменного метаболизма моноаминов, гипердофаминергической активностью, дисбалансом клеточного и гуморального иммунитета, а именно формированием определенного фенотипа нейро-иммунного профиля. Серотонин (5-гидрокситрипамин) является одним из ключевых соединений, определяющих биологические функции и поведение человека, играющий важное значение в патогенезе широкого спектра нейропсихиатрических заболеваний. Роль медиатора поддержания гомеостаза организма серотонин выполняет в основном через рецепторы, экспрессирующиеся на клеточной поверхности эффекторных клеток. Наибольшее

внимание исследователей сосредоточено на рецепторе 2A (5-НTR_{2A}), задействованном во множественных функциях организма.

Но большинство исследований патогенеза РШС на клеточном уровне и поиска прогностических маркеров антипсихотической терапии, проводимых до настоящего время, не имели комплексного подхода. Работы строились либо на поиске ассоциаций между определенной характеристикой нейро-иммунной системы (уровнем цитокинов, профилем прекурсоров моноаминов и т.п.) и определенной симптоматикой заболеваний (значениями психометрических шкал, резистентностью к антипсихотической терапии..), либо на изучении механизмов дисфункции исследуемых параметров (например, участие тех или иных рецепторов нейротрансмиссии лимфоидных клеток в активизации синтеза провоспалительных цитокинов). В представляемом диссертационном исследовании проведена комплексная оценка параметров рецептора серотонина 2A, определяющих динамическое равновесие нейро-иммунно-гуморального гомеостаза организма и его нарушений при развитии психических патологий.

Кроме того, в настоящее время большинство исследований, предметом которых является альтернативный сплайсинг, посвящено изучению механизмов дифференциации клеток, регулированию клеточной физиологии, сосредоточено на изучении роли изоформ транскриптов в онкогенезе. Когда переключение изоформ может приводить к трансляции белков с противоположными свойствами, как например, в случае гена-супрессора опухоли p53: изоформа $\Delta 133p53$ ингибирует апоптоз опухолевых клеток, индуцированный полноразмерной изоформой p53 β , формируя критические для организма клеточные фенотипы.

Изучение роли альтернативного сплайсинга генов при нейродегенеративных и психических заболеваниях, а также взаимовлияния паттерна изоформ транскриптов и действия фармакологических препаратов, только начинается, существуют единичные работы. Белки, кодируемые изоформами транскриптов гена *HTR2A*, сохраняя свою основную функцию рецептора, медиатора внутриклеточного сигналинга, меняют свои функциональные свойства и количественную представленность на мембране клеток, индуцируя определенный фенотип эффекторной клетки. Определение паттерна изоформ транскриптов гена *HTR2A* на мононуклеарных клетках, является новым подходом изучения динамического равновесия нейро-иммунно-гуморального гомеостаза в целом и его нарушений при развитии психических патологий.

Практическая значимость

Расстройства шизофренического спектра являются наиболее превалирующими и серьезными психическими заболеваниями, а их фармакотерапия до настоящего времени остается одной из наиболее сложных областей клинической психиатрии, что обусловлено высокой распространенностью различных нозологических форм данного недуга, развитием лекарственной резистентности и большим количеством побочных эффектов применяемых антипсихотиков. Изучение патогенеза подобных патологий и поиск прогностических маркеров антипсихотической терапии на молекулярном уровне имеет как фундаментальное, так и прикладное значение.

С одной стороны, в итоге работы на основе кумулятивных знаний о транскрипционном профиле гена *HTR2A*, количестве зрелого белка, который он кодирует, и характеристик психического статуса (проявление позитивных, негативных и когнитивных симптомов) была оценена биологическая роль альтернативных событий сплайсинга, как фундаментального механизма фенотипического разнообразия белков, в формировании определенного фенотипа, на примере расстройств шизофренического спектра.

С другой, разработка предиктивных и персонализированных подходов к профилактике и терапии на основе биомаркеров развития заболеваний и назначения антипсихотических препаратов значительно повысит эффективность проводимого лечения и позволит снизить бремя психических расстройств. В целом, результаты диссертационного исследования помогут улучшить качество и эффективность проводимой терапии и принесут социально-экономическую выгоду здравоохранению в целом.

Обоснованность и достоверность научных положений и выводов

Достоверность и обоснованность научных положений и результатов не вызывает сомнений, и подтверждается адекватностью выбранных методов исследования и подходов. Результаты получены на репрезентативных выборках пациентов. Особого внимания заслуживает факт, что исследование было проведено на пациентах с первым психотическим эпизодом, ранее не подвергавшихся антипсихотической терапии, что позволяет исключить влияние данного параметра на получаемые результаты. Примененные методы статистического анализа современны и адекватны поставленным задачам. Результаты обработаны с использованием соответствующего программного обеспечения. Выводы диссертации и положения, выносимые на защиту, научно обоснованы, четко сформулированы в соответствии с поставленными задачами, логично вытекают из результатов работы и отражают основные ее положения.

Основные положения диссертационной работы представлены на большом количестве конференций, в том числе, на четырех крупных зарубежных конгрессах (Конгресс Европейской Коллегии Нейропсихофармакологии, ECNP), по теме работы опубликовано 7 статей в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, в том числе, 5 статей, индексируемых в базах данных Scopus и Web of Science, что свидетельствует о достаточной апробации работы.

Общая характеристика работы и оценка ее содержания

Диссертационная работа Заботиной Анны Михайловны изложена на 142 страницах машинописного текста в традиционном стиле и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов исследования, их обсуждения, заключения и выводов, иллюстрирована 31 рисунком и 19 таблицами.

Литературный обзор является развернутым, занимает 34 страницы, подробно иллюстрирован, написан научным языком, охватывает физиологические и биохимические аспекты как развития шизофрении, так и воздействия на организм антипсихотической терапии. Данный обзор литературы четко обосновывает необходимость проведения исследования и поводит к постановке цели исследования. Обзор включает анализ литературных источников за последние 15 лет, преимущественно англоязычные публикации (157 из общего числа 180 источников).

Работа выполнена в сочетанном дизайне проспективного лонгитудинального наблюдения пациентов с расстройствами шизофренического спектра и назначением антипсихотического лекарственного средства путем рандомизации и исследования по типу «случай-контроль» с привлечением лиц контрольной группы. Объектом исследования являлись лимфоциты периферической крови. Подобный дизайн исследования позволяет проанализировать ассоциации изучаемых характеристик рецептора 5-HT_{2A} как с риском развития шизофрении, так и ответом на антипсихотическую терапию (развитием негативных побочных эффектов). Методы исследования описаны подробно, что позволяет, при желании, полностью воспроизвести эксперименты исследования.

Раздел диссертации «Результаты исследования» написан подробно, в нем присутствует достаточное количество таблиц и рисунков, что помогает лучшему восприятию материала. Статистические методы подобраны в соответствии с поставленными задачами. Обсуждение результатов исследования выделено в отдельную главу, где сопоставляются результаты исследования с результатами других исследований в данной области.

На основании проведенного исследования автор сформулировал 5 выводов и почему-то, к сожалению, не сформулировано ни одного пункта практических рекомендаций. Выводы соответствуют положениям, выносимым на защиту, и отражают основные идеи работы.

Хочется отдельно отметить тщательность и аккуратность в оформлении работы, хороший язык, большое количество иллюстративного материала. Работа читается легко и оставляет приятное впечатление в целом. Автореферат соответствует основному содержанию диссертации.

Таким образом, работа Заботиной А.М. производит благоприятное впечатление, а указанные ниже замечания и вопросы не умаляют ее значимости.

Замечания по диссертации:

1. В первую очередь, не очень удачно сформулирована цель исследования, а именно часть ее - «роль рецептора серотонина в патогенезе шизофрении». Более точно было бы сформулировать ее «как маркер развития заболевания». Патогенез психических расстройств, на наш взгляд, в работе не изучался.
2. Отсутствие практических рекомендаций по результатам исследования, которые были бы очень логичны исходя из практической значимости работы и несомненно украсили бы диссертационное исследование.
3. Присутствие в тексте небольшого количества опечаток, так в таблице 3.7 раздела «Результаты исследования» отсутствует столбец с расшифровкой варианта сплайсинг варианта гена *HTR2A*.

Вопросы:

1. Зачем была включена в исследование группа пациентов с коморбидным течением расстройств шизофренического спектра с синдромом алкогольной зависимости? В тексте диссертации не приведено обоснование для ее изучения.
2. Поясните, почему срок наблюдения пациентов с психотическим эпизодом в вашем исследовании ограничивался 28 днями? Когда курс антипсихотической терапии обычно составляет 2-3 месяца.
3. Объясните, пожалуйста, в чем новизна раздела диссертационного исследования, посвященного определению концентрации провоспалительных цитокинов в сыворотке крови? Какими параметрами Вы руководствовались для выбора изучаемых иммунологических показателей?
4. Большой раздел Вашей работы посвящен сплайсинг вариантам второго экзона гена *HTR2A*. Известно ли как данные изучаемые альтернативные формы транскриптов влияют на структуру белка рецептора?

Заключение

Диссертационная работа Заботиной А.М. на тему «Роль рецептора серотонина 2A в патогенезе расстройств шизофренического спектра и прогнозе антипсихотической терапии», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия (биологические науки), является законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной задачи, имеющей важное значение для молекулярной биологии, – определение факторов риска развития расстройств шизофренического спектра и негативных побочных эффектов антипсихотической терапии на основе анализа биохимических и молекулярно-генетических характеристик рецептора серотонина 2A (5-HT_{2A}) лимфоцитов периферической крови. В частности, получены новые сведения о роли альтернативных форм транскриптов гена *HTR2A* в формировании расстройств шизофренического спектра и антипсихотик-индуцированной акатизии. Полученные результаты предполагают новые персонифицированные подходы к назначению антипсихотической терапии.

Диссертационная работа соответствует требованиям п.9-11, 13, 14, установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09. 2013 г. № 842, а ее автор Заботина Анна Михайловна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия (биологические науки).

Отзыв о научно-практической значимости работы Заботиной А.М. обсужден и одобрен на заседании межлабораторного семинара ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России, протокол №28/8-23 от 28 августа 2023 г.

Отзыв составлен заведующий лабораторией молекулярной генетики человека ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю. М. Лопухина ФМБА России, кандидатом биологических наук, доцентом Генерозовым Эдуардм Викторовичем. Адрес: Россия, Москва, 119435, Малая Пироговская, д. 1а, тел.: +7 (916)9065167, e-mail: generozov@rcrcm.org

28.08.2023

Заведующий лабораторией молекулярной генетики человека ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России, к.б.н. _____ Э.В. Генерозов.

Подпись Э.В. Генерозова удостоверяю

Ученый секретарь ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю. М. Лопухина ФМБА России, к.б.н. О.П. Лихнова.

28.08.2023

О.П. Лихнова.



Согласен на сбор, обработку, хранение и передачу моих персональных данных при работе диссертационного совета 24.1.218.01 по диссертационной работе Заботиной Анны Михайловны «Роль рецептора серотонина 2A в патогенезе расстройств шизофренического спектра и прогнозе антипсихотической терапии», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия (биологические науки).

Заведующий лабораторией молекулярной генетики человека ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России, к.б.н. _____ Э.В. Генерозов.

28.08.2023

