

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, доцента Таянского Дмитрия Андреевича
о диссертации Заботиной Анны Михайловны
на тему «РОЛЬ РЕЦЕПТОРА СЕРОТОНИНА 2А В ПАТОГЕНЕЗЕ РАССТРОЙСТВ
ШИЗОФРЕНИЧЕСКОГО СПЕКТРА И ПРОГНОЗЕ АНТИПСИХОТИЧЕСКОЙ
ТЕРАПИИ», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических
наук по специальности 1.5.4. Биохимия (биологические науки)

Актуальность темы исследования. Шизофрения – заболевание, которое имеет высокую распространенность, порядка 1% в популяции, затрагивает преимущественно молодых и приводит к преждевременной потере трудоспособности и в ряде случаев – к гибели пациента. Патогенез шизофрении сложный, неоднородный, вероятно, у разных пациентов, имеющий свои особенности. В частности, показаны нарушения у пациентов дофаминовой, серотониновой, глутаматной нейротрансмиссии в разных участках мозга. Заболевание часто сопровождается признаками нейровоспаления, которое может быть связано с дисфункцией указанных путей, гибелью нейронов и как следствие – активацией микроглии и лимфоцитов. Однако возникает вопрос о поисках специфических маркеров воспалительного ответа при шизофрении. Вследствие сложности и неясности многих патогенетических звеньев шизофрении, часто возникают проблемы точной его диагностики. Как известно, диагноз выставляется сугубо по клинической симптоматике, игнорируя молекулярные поломки, которые могут являться основой шизофрении. В связи с этим, исследование автора, направленное на выяснение роли серотонинового рецептора 2А (5HT_{2a}-рецептора) в качестве молекулярного маркера патогенеза шизофрении и прогноза эффективности терапии данного заболевания, является актуальным. В частности, заслуживает внимание изучение генетических вариантов, экспрессии гена и молекулярных форм данного рецептора в периферических лимфоцитах – возможных участников, либо свидетелей нейровоспаления при данном заболевании.

Структура диссертации. Диссертация построена по традиционному плану, изложена на 142 страницах и включает в себя следующие разделы: Введение, Обзор литературы, Материалы и Методы, Результаты, Обсуждение результатов, Заключение, Выводы, Список литературы. Последний включает в себя 180 источников. Диссертация иллюстрирована 31 рисунком и 19 таблицами.

Введение содержит все необходимые разделы: актуальность темы исследования и степень ее разработки, цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследования, методология и методы исследования, положения,

выносимые на защиту, степень достоверности и апробация результатов, личный вклад автора, сведения о публикациях автора по материалам исследования и о структуре и объеме диссертации.

В *обзоре литературы* приведены сведения о нейрохимических механизмах формирования расстройств шизофренического спектра, роли нейровоспаления в формировании шизофрении, молекулярных основах действия антипсихотиков I и II поколений. Подробно дается характеристика серотониновым рецепторам, путям трансдукции серотонинового сигнала в нейронах. Особое внимание уделяется строению, функциям, локализации серотонинового рецептора типа 2A, дается обоснование участия данного рецептора в патогенезе шизофренических расстройств. Подробно описаны сведения, касающиеся структуры гена *HTR2A*, регуляции экспрессии гена и его альтернативных транскриптов. Обзор написан довольно подробно, хорошим научным языком, в нем представлены исследования последних 5 лет как отечественных, так и зарубежных специалистов, и после ознакомления с ним можно сделать вывод о том, что остается целый ряд вопросов о роли изоформ серотонинового рецептора 2A в патогенезе шизофрении и прогнозе эффективности терапии данного заболевания.

Методы изложены подробно и достаточно для последующего воспроизведения экспериментов. Для решения задач автор использовал традиционный методический подход: выделение мононуклеаров из периферической крови, методы ПЦР, рестрикционный анализ, методы ИФА. Особая ценность данной работы заключается в оценке различных изоформ мРНК гена серотонинового рецептора. Используемые автором методы адекватны поставленным задачам.

Результаты богато иллюстрированы, полученные данные статистически обработаны и представлены с указанием разбросов значений изучаемых характеристик, приведены уровни значимости *p*.

Научная новизна и теоретическая значимость исследования

Автором впервые детально охарактеризованы особенности экспрессии гена *HTR2A* в лимфоцитах у больных шизофренией. Автором впервые показано отсутствие изменения экспрессии гена *HTR2A* в лимфоцитах у пациентов с шизофренией на уровне мРНК и белка. При этом автор впервые установил, что у пациентов с шизофренией преобладает изоформа 5HT_{2a}-рецептора с отсутствием 2 экзона (во всяком случае на уровне мРНК). Эти данные указывают на возможность изменения активности рецептора 5HT_{2A} за счет синтеза особой изоформы рецептора, что является перспективным для дальнейшего

изучения как особенностей функционирования серотонинергической системы, так и действия лекарственных средств у больных шизофренией.

Впервые показаны особенности влияния отдельных антипсихотических препаратов на экспрессию гена *HTR2A*, а именно выявлено, что на фоне приема оланзапина содержание в лейкоцитах 5HT_{2a}-рецептора, но не транскриптов гена данного белка, было более низким, чем у пациентов, принимавших галоперидол. Автор вполне разумно трактует эту находку как свидетельство десенситизации рецепторов 5HT_{2a} после действия на организм оланзапина, высокоаффинного лиганда этого рецептора. Эти результаты могут являться предпосылкой изучения роли изменения количества серотониновых рецепторов в лейкоцитах в иммунорегуляции и процессах воспаления у пациентов, принимающих антипсихотики. Особенно это важно в контексте разработки способов коррекции нейровоспаления у пациентов с шизофренией.

Автором впервые установлено, что количество белка 5HT_{2a}-рецептора в лейкоцитах не предсказывает эффективность терапии шизофрении оланзалином и галоперидолом, при этом эффективность указанной терапии связана с одной из изоформ мРНК этого белка. Возможно, активность рецептора, кодируемого данной изоформой (E2-), и определяет эффективность антипсихотической терапии. Этот вопрос требует дальнейшего изучения.

Автором также впервые установлены некоторые молекулярно-биологические маркеры, указывающие на вероятное развитие побочных эффектов антипсихотической терапии. Так, по данным автора уровень экспрессии некоторых изоформ гена *HTR2A* был ассоциирован с большей вероятностью акатизии, в то время как уровень экспрессии общей мРНК *HTR2A* и содержание его белкового продукта в лейкоцитах – с вероятностью развития паркинсонизма.

Полученные автором данные расширяют представления о регуляции экспрессии гена серотонинового рецептора *HTR2A* в лейкоцитах при шизофрении и антипсихотической терапии. Очень перспективным, на мой взгляд, выглядит дальнейшее изучение участия различных изоформ серотониновых рецепторов в развитии психопатологии и изменениях иммунорегуляции у пациентов с шизофренией и при других психических расстройствах (биполярное расстройство, зависимости и пр.).

Практическая значимость исследования

Практическое значение данной работы заключается в разработке молекулярно-биологических предикторов прогноза эффективности и безопасности терапии пациентов с шизофренией. Результаты диссертации могут быть использованы для дальнейшего

изучения механизмов функционирования серотинергической системы и иммунорегуляции у пациентов с шизофренией.

Обоснованность и достоверность научных положений и выводов

Достоверность большинства результатов не вызывает сомнений, поскольку результаты, приведенные в работе, были получены на клинических группах с достаточным количеством обследуемых, а используемые методы получения и обработки проб, молекулярно-биологического и биохимического анализа не встречают возражений. Примененные методы статистического анализа современны и адекватны поставленным задачам. Основные положения, представленные на защиту, и выводы в целом вытекают из полученных результатов.

Основные положения диссертации были апробированы на всероссийских и международных конференциях. По теме диссертации опубликовано 7 статей в рецензируемых изданиях, из них 5 – в базах данных Scopus или Web of science, что для кандидатской диссертации является неплохим показателем.

Замечания по диссертации:

1. На мой взгляд, в работе автор недостаточно обосновал включение в исследование группы шизофрении, коморбидной с синдромом алкогольной зависимости (САЗ).
2. Для точной интерпретации результатов в группе коморбидности (изменение экспрессии мРНК *HTR2A*, уровня белкового продукта, распределения альтернативных транскриптов и пр.) не хватает группы САЗ без шизофрении. В частности, снижение уровня в клетках рецептора 5HT_{2a} характерно только для лиц с САЗ, или это происходит лишь у «коморбидных» пациентов? Хотя автор пишет, что, указанный феномен в группе коморбидности является следствием САЗ у этих лиц. В связи с этим возникает вопрос, имеются ли данные по влиянию алкоголя, либо САЗ на экспрессию *HTR2A*? Каковы механизмы этого влияния?
3. На мой взгляд, не достаточно обоснован вывод о том, что в ЛПК у пациентов с шизофренией преобладают *оба* альтернативных транскрипта *HTR2A*. Скорее всего речь может идти только о E2-, но не о Etr транскрипте.
4. По результатам с терапией антипсихотиками (снижение уровня белка HT_{2a}-рецептора в ЛПК): сложно судить об эффекте самих антипсихотиков, не имея

группы плацебо-контроля. С другой стороны, полученные данные позволяют сравнивать действие отдельных антипсихотиков.

5. В методах часто используются названия реагентов без описания их содержимого (буфер RTL, раствор А и пр.), дается лишь ссылка на название набора, откуда такие реактивы. На мой взгляд, в работе лучше указывать, что стоит за этими наименованиями. Иногда приводятся объемы веществ вместо их концентраций или их количеств, когда это требуется. Нет данных о том, каким методом проверяли ли специфичность праймеров и в какой мере специфичен ИФА-метод для определения HT2a-рецепторов, а не его гомологов.

Вопросы:

1. Какая изоформа белка HTR2a в изучаемых клетках преобладает в норме и при шизофрении? Каковы изменения активности рецептора, лишённого 2 экзона? Какой участок белка кодируется экзоном 2, за что он отвечает?
2. Один из самых ярких результатов – снижение экспрессии мРНК *HTR2A* наряду с повышением экспрессии мРНК всех вариантов E2 изоформ *HTR2A* в мононуклеарах у пациентов с коморбидностью. Как объяснить такие «ножницы»?
3. В некоторых клинических группах ряд полиморфных вариантов *HTR2A* был ассоциирован с изменением белка, но не мРНК этого гена. Это случайность, или как-то это можно объяснить? Каковы предположения о влиянии генотипа *HTR2A* на эффект оланзапина на уровень белкового продукта данного гена?
4. Можно ли ожидать, что на фоне уменьшения оланзапином количества рецепторов HT2a экспрессия других типов рецепторов серотонина будет возрастать, и скажется ли это на эффектах данного нейротрансмиттера?

Указанные вопросы и замечания ни в коей мере не снижают значимости полученных результатов и не влияют на общую положительную оценку диссертационного исследования Заботиной А.М.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, диссертационная работа Заботиной Анны Михайловны 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 биохимии – выяснение механизмов участия рецептора серотонина 2A в патогенезе расстройств шизофренического спектра и прогнозе антипсихотической терапии. В частности, получены новые сведения об особенностях экспрессии гена *HTR2A* в лейкоцитах у пациентов с расстройствами шизофренического спектра и при антипсихотической терапии. Полученные результаты предполагают новые подходы в оценке прогноза эффективности и безопасности антипсихотической терапии у пациентов с расстройствами шизофренического спектра.

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. Биохимии (биологические науки).


Официальный оппонент:
Заведующий отделом биохимии
Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
«Институт экспериментальной медицины»,
доктор медицинских наук, доцент
Танянский Дмитрий Андреевич

«1» августа 2023 г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины»,
197022, Санкт-Петербург, ул. академика Павлова, д. 12
Телефон: +7(812)234-68-68
Сайт организации: <https://iemspb.ru>
E-mail: dmitry.athero@gmail.com

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).

Подпись доктора медицинских наук, доцента
Танянского Дмитрия Андреевича заверяю

Подпись 
Удостоверяется
Им. отдела кадров ФГБНУ «ИЭМ»




01.08.2023