

ОТЗЫВ

**официального оппонента доктора биологических наук, доцента Гареевой
Анны Эмировны на диссертационную работу Заботиной Анны
Михайловны «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

Диссертационная работа Заботиной А. М. была выполнена в лаборатории молекулярной генетики человека Федерального государственного бюджетного учреждения «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт».

Диссертационная работа посвящена изучению рецептора серотонина 2А в лимфоцитах периферической крови как части патогенеза расстройств шизофренического спектра, а также как возможного биомаркера этих заболеваний и прогноза терапии антипсихотиками. Расстройства шизофренического спектра - группа психических заболеваний, имеющих, генетическую общность, характеризующихся в целом сходными клиническими проявлениями и представленные в МКБ-10 в одной рубрике – F 2. Трудности диагностики данной группы инвалидизирующих расстройств связаны с полиморфизмом клинической картины, синдромальной незавершенностью психопатологических феноменов, наличием «стертых» атипичных форм. Нейролептики являются основной группой препаратов в терапии данной группы расстройств, и несмотря на свою эффективность, могут приводить к развитию ряда серьезных побочных реакций, снижающих качество жизни и приводящих к отказу от их приема. Несмотря на проведение огромного числа исследований, этиология РШС до конца не изучена. На сегодняшний день не существует биологических маркеров для назначения определенных антипсихотиков, прием которых сопровождается развитием нежелательных явлений или отсутствием эффекта терапии. Известно, что в патогенез шизофрении и РШС вовлечены ЦНС, иммунная и эндокринная системы. Поскольку рецептор HTR2A является мишенью антипсихотиков I и II поколения и задействован в патогенезе расстройств шизофренического спектра, его изучение в мононуклеарных клетках периферической крови в норме, при психических расстройствах, а также при воздействии антипсихотических препаратов, представляет большой интерес. Таким образом, изучение характеристик рецептора серотонина 2А, которые несложно проанализировать в современной лаборатории в качестве биомаркеров развития РШС и прогноза терапии, является актуальной задачей.

Научная новизна исследования

Диссертационная работа Заботиной А. М. выполнена в сочетанном дизайне проспективного лонгитудинального наблюдения психически больных с назначением антипсихотика путем рандомизации, а также привлечения группы сравнения. Новизна исследования обусловлена его дизайном, поскольку изучались характеристики рецептора HTR2A у пациентов с первым психотическим эпизодом, не принимавших антипсихотики ранее, что позволило исключить их влияние на изучаемые показатели, а также многокомпонентной оценкой экспрессии рецептора HTR2A в лимфоцитах периферической крови. Что позволило как оценить возможные факторы риска развития расстройств шизофренического спектра, формирования негативных побочных эффектов терапии, так и изменение изучаемых показателей рецептора серотонина 2A при фармакотерапии острых психических состояний.

Теоретическая и научно-практическая значимость исследования

Результаты диссертационного исследования Заботиной А.М. представляют научный интерес для понимания периферического компонента патогенеза расстройств шизофренического спектра, а также изменений при воздействии на организм антипсихотиков. Было показано снижение уровня экспрессии гена *HTR2A* (мРНК, белок), ассоциированное с расстройствами шизофренического спектра с синдромом алкогольной зависимости. Снижение количества белка HTR2A в лимфоцитах крови при терапии оланзапином в течение 4-х недель происходило без уменьшения уровня мРНК гена *HTR2A*, что указывает на изменение процессов трансляции/интернализации рецептора. При этом снижение концентрации белка 5-HT_{2A} в лимфоцитах периферической крови на фоне терапии антипсихотическими препаратами было ассоциировано с аллелями *A (T) rs6311(rs6313) HTR2A*. Было показано, что носители генотипа *CC (GG) rs6311(rs6313) HTR2A* показывают лучший ответ на терапию галоперидолом. Была найдена ассоциация эффективности терапии галоперидолом и оланзапином с повышенным уровнем экспрессии изоформы без II экзона в лимфоцитах. Найдены ассоциации развития экстрапирамидных побочных эффектов при приеме галоперидола и оланзапина. Автором было показано, что отсутствие снижения количества белка рецептора 5-HT_{2A} при воздействии нейролептиков ассоциировано с развитием таких побочных эффектов терапии, как паркинсонизм, акатизия, антипсихотик-индуцированный набор веса. Полученные данные могут быть использованы для создания панели биохимических маркеров эффективности терапии и оценки риска развития экстрапирамидных побочных эффектов акатизии и паркинсонизма.

Обоснованность и достоверность результатов исследования

Диссертационная работа Заботиной А. М. проведена на достаточно высоком методическом уровне. Высокая степень достоверности и обоснованности выводов, а также основных результатов диссертационной

работы обусловлена выполнением на репрезентативных выборках, применением современных методов экспериментальной биологии с использованием биохимических и молекулярно-генетических технологий и статистического анализа, что полностью соответствует поставленной цели и задачам исследования.

Структура и содержание диссертационной работы

Диссертационная работа Заботиной А. М. изложена на 142 страницах, написана по традиционному плану: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты, обсуждение исследования, заключение, выводы, список сокращений и список процитированной литературы, содержащий 180 литературных источников содержащем достаточное количество работ последних 5-10 лет. Диссертация иллюстрирована 19 таблицами и 30 рисунками.

Во введении автором обосновывается актуальность исследования, а также его новизна и практическая значимость. Поставленные задачи соответствуют цели исследования.

В подробном обзоре литературы представлены данные последних лет о этиологии расстройств шизофренического спектра, роли взаимодействия нервной и иммунной систем, альтернативного сплайсинга, рецепторов моноаминов, в том числе, *HTR2A* в формировании психических заболеваний.

В главе «Материалы и методы» подробно описаны использованные автором методики, что позволяет, при желании, воспроизвести все эксперименты. Следует отметить разнообразие методов исследования, использованных в данной работе: выделение лимфоцитов периферической крови (ЛПК) центрифугированием в градиенте плотности фиколла, выделение ДНК солевым методом, полимеразная цепная реакция синтеза ДНК, определение генотипов *HTR2A* при помощи анализа длин рестрикционных фрагментов ДНК в полиакриламидном геле, выделение тотальной РНК из лимфоцитов крови лизисом и использованием хромотографических колонок, определение уровня экспрессии гена *HTR2A* методом количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени с использованием зондов TaqMan и красителя EVA Green, определение концентрации белка методом иммуноферментного анализа.

В Главе «Результаты», представлены результаты изучения характеристик рецептора *HTR2A*: количество белка, уровень мРНК *HTR2A*, уровень изоформ с участием II экзона *HTR2A* (E2+, E2tr, E2-) в лимфоцитах крови в группах пациентов с расстройствами шизофренического спектра как до, так и после 28 дней терапии антипсихотиками I и II поколения (оланзапин, галоперидол) а также в группе здоровых индивидов. Также была проведена оценка частоты генотипов rs6311(A/G), rs6313(T/C) *HTR2A* во всех изучаемых выборках. Первое направление исследования – определение особенностей экспрессии гена *HTR2A* в лимфоцитах периферической крови в группах больных РШС и здоровых индивидов для оценки параметров, ассоциированных с развитием психических патологий, второе – оценка изменений изучаемых показателей

под действием монотерапии антипсихотиком в течение 28 дней с целью выявить ассоциации эффективности и безопасности терапии с изучаемыми показателями. Также в ходе работы была определена концентрация цитокинов IL-6, IL-1 β и TGF- β 1 как до, так после терапии препаратами в качестве маркера общего воспаления. Было показано, что терапия оланзапином приводит к снижению уровня белка HTR2A в лимфоцитах крови. Показано изменение экспрессии изоформ рецептора *HTR2A* у пациентов с расстройствами шизофренического спектра по сравнению с контрольной группой. Были найдены маркеры эффективности и безопасности терапии оланзапином и галоперидолом.

В главе «Обсуждение» подробно сопоставляются все полученные результаты с данными мировой литературы по данному направлению.

В «Заключении» подводятся итоги результатов всех исследований, резюмируются ключевые положения диссертационной работы.

Выводы диссертационного исследования четко сформулированы и соответствуют поставленным целям и задачам.

Автореферат в краткой форме отражает суть диссертационной работы, содержит положения, выносимые на защиту, основные результаты исследования, выводы и список работ, опубликованных по теме диссертации.

Сведения о полноте опубликованных научных результатов

Основные результаты диссертационной работы опубликованы в 7 статьях в журналах, рекомендованных ВАК, 5 из них – в журналах, индексируемых в базах данных Scopus и Web of Science. Промежуточные результаты доложены на 15 всероссийских и международных конференциях.

Общие вопросы и замечания по работе

Существенных замечаний в работе не обнаружено, однако, имеются отдельные вопросы и замечания, в целом не противоречащие положительной оценке работы и не снижающие ее научно-практическую значимость:

1. Допущена терминологическая неточность при описании результата: «При терапии оланзапином уровень экспрессии гена *HTR2A* снизился с начального 0.70 (0.22÷1.31) до 0.43 (0.14÷1.24), не достигнув статистически значимых различий ($p=0.670$)». В данном случае следует указать, что уровень экспрессии гена оставался неизменным.
2. Была ли корреляция концентрации цитокинов с изучаемыми характеристиками HTR2A?
3. Какую роль может играть изменение функций рецептора на лимфоцитах периферической крови?
4. Почему в исследование были включены мужчины? Как оценивалась и набиралась группа сравнения (психически здоровые мужчины)?
5. Есть ли данные о корреляции экспрессии рецептора HTR2A в головном мозге и лимфоцитах периферической крови по литературным источникам?
6. Какие перспективы дальнейшего развития этой работы?

7. Какие практические выводы можно сделать из результатов данного исследования?

Заключение

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 биологии в целом, в частности в области исследования молекулярного патогенеза психических заболеваний. 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).

Официальный оппонент:

Ведущий научный сотрудник Лаборатории молекулярной генетики человека Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, доктор биологических наук, доцент (специальность 03.02.07 – генетика)

 Гареева Анна Эмировна

«05» сентября 2023 г.


Подпись Гареевой А.Э. заверяю:

Заместитель директора по научной работе Федерального государственного бюджетного научного учреждения Института биохимии и генетики Уфимского Федерального исследовательского центра Российской академии наук, доктор биологических наук, доцент



 Карунас Александра Станиславовна

Согласна 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).

 _____ Гареева Анна Эмировна

Гареева Анна Эмировна

Адрес места работы: 450054, Республика Башкортостан, город Уфа, Проспект Октября, д. № 71 Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук

Должность: ведущий научный сотрудник

Телефон организации: +7 (347) 235-60-88

Сайт организации: <http://ufaras.ru>

E-mail оппонента: annagareeva@yandex.ru