

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Родного Александра Ярославовича «Влияние сверхэкспрессии гена 5-HT₇ рецепторов в мозге на регуляцию нормального и депрессивноподобного поведения и пластичность серотониновой системы мозга», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. – физиология человека и животных

Оценка актуальности исследования диссертации.

Депрессия является широко распространенным и социально значимым заболеванием. Несмотря на неясность этиологии этого расстройства, долгое время изучение ее патофизиологии было сосредоточено в основном на серотонине (5-HT) и серотонинергической нейротрансмиссии. Изучение патофизиологических процессов, лежащих в основе депрессии, привело к пониманию сложности этого синдрома, но, тем не менее, важная роль 5-HT сомнению не подвергается. Современные методы лечения депрессии не являются совершенными, тем не менее, прогресс в понимании нейробиологии депрессии идет медленно, а разработка новых улучшенных антидепрессантов без побочных эффектов ограничена. Механизм действия антидепрессантов очень сложен и не всегда понятен. Ожидается, что ингибирование обратного захвата или катаболизма моноаминов приведет к усилению действия этих транмиттеров. Однако все доступные антидепрессанты проявляют свои положительные эффекты только после длительного приема, что означает, что усиленная серотонинергическая или норадренергическая нейротрансмиссия сама по себе не отвечает за клиническое действие этих препаратов. Для понимания особенностей действия антидепрессантов необходимо разрабатывать новые подходы, которые будут учитывать структурное расположение мишеней, а также последствия взаимодействия на клеточных мембранах нейронов различных мишеней-рецепторов, что может значительно менять функциональный ответ последних.

Научная новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В диссертационной работе Родного А.Я. впервые было показано, что сверхэкспрессия рецептора 5-HT₇ в ядрах шва среднего мозга вызывает значительный антидепрессивный эффект у мышей линии ASC/Isq (генетической модели депрессии) и значительно снижает уровень поведенческого отчаяния у мышей линии C57BL/6J в тесте принудительного плавания. Кроме того, впервые продемонстрировано, что сверхэкспрессия рецептора 5-HT₇ во фронтальной коре вызывает депрессивно-подобное поведение у мышей линии C57BL/6J, что, вероятно, поддерживает выдвинутую ранее в

данном коллективе гипотезу о роли гетеродимеризации рецепторов 5-HT_{1A}/5-HT₇ в подавлении активности рецептора 5-HT_{1A}. Полученные данные значительно дополняют знания об участии рецептора 5-HT₇ в регуляции функционального состояния серотониновой системы мозга.

Значимость для науки и практики полученных в диссертации результатов

С одной стороны, результаты, полученные в данной работе, имеют существенное фундаментальное значение, поскольку дополняют наши знания о взаимодействиях рецепторов 5-HT_{1A} и 5-HT₇ в регуляции серотониновой системы мозга и формировании депрессивноподобного поведения. С другой стороны, полученные результаты имеют большой потенциал для разработки новых препаратов в практической фармакологии.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, представленных в диссертации

Научные положения, выносимые на защиту, сформулированы на основе научно-обоснованных теорий из опубликованных научных материалов и не противоречат результатам, полученным диссертантом. Полученные в данной работе результаты позволяют расширить уже имеющиеся фундаментальные данные о роли рецепторов 5-HT_{1A} и 5-HT₇ в формировании патологического поведения, что, несомненно, делает данную работу новой и значимой.

Достоверность полученных результатов подтверждена достаточным объемом экспериментального материала, а также адекватного выбора критериев для статистической обработки результатов. По теме диссертации автором опубликовано 12 научных работ, из них 5 полнотекстовых статей в ведущих рецензируемых журналах и изданиях, рекомендованных ВАК РФ (Александр является первым автором в двух статьях), а также 7 тезисов в сборниках всероссийских и международных конференций.

Рекомендации по использованию результатов диссертационной работы

В диссертационной работе Родного А.Я. представлены новые фундаментальные знания о роли рецепторов 5-HT₇ в развитии депрессии, которые могут дополнить программы обучения по нейрофизиологии для студентов биологических и медицинских специальностей.

Полученные данные также могут быть рекомендованы для дальнейшего изучения механизмов, лежащих в основе действия современных антидепрессантов, а также для разработки новых препаратов с антидепрессантными свойствами следующим научным коллективам: Институту высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН

(Лаборатория молекулярной нейробиологии), Институту мозга человека им. Н.П. Бехтеревой (Лаборатория направленной внутримозговой доставки препаратов.), РегМед проф» (Разработка новых и воспроизведенных готовых лекарственных средств), Научно-образовательному и инновационному центру химико-фармацевтических технологий, «ЗАО «Фарм-Холдинг» (Лаборатория разработки лекарственных средств).

Структура и основное содержание диссертации.

Диссертационная работа А.Я. Родного построена по традиционной схеме и содержит введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и их обсуждение, заключение, выводы, список сокращений и список литературы. Работа написана на 111-и страницах, имеет 37 рисунков, содержит 1 таблицу. Список литературы состоит из 170 источников.

В вводной части диссертации описана актуальность и научная новизна исследования, сформулированы цель и задачи, описана научно-практическая значимость исследования, указаны основные положения, выносимые на защиту. Данный раздел написан грамотно и аргументированно.

Обзор литературы, сопровождающийся хорошо проиллюстрированным материалом, представлен детальной и актуальной информацией из публикаций научных статей последних лет. Автор подробно описал функции и строение серотониновой системы, функции и сигнальные пути рецепторов 5-HT_{1A} и 5-HT₇, а также механизмы их регуляции и взаимодействия. Особое внимание автор уделяет гипотезе о гетеродимеризации рецепторов 5-HT_{1A} и 5-HT₇ и ее значении для функционирования серотониновой системы мозга. Отдельно описаны способы моделирования депрессивно-подобных состояний на лабораторных животных, включающие модели первичной и вторичной депрессии, а также генетические модели депрессии. Обзор литературы завершает глава, посвященная современному методологическому подходу, примененному в данной работе - вирусным векторам как инструментам нейробиологии.

В разделе «Материалы и методы» подробно описываются используемые в работе методы: культуральные методы, стереотаксический метод, флуоресцентная микроскопия, поведенческие тесты «открытое поле» и «принудительное плавание», полимеразная цепная реакция в реальном времени, хроматографический анализ, вестерн-блот анализ. В работе применены разнообразные современные методы исследования (генно-инженерные, молекулярно-биологические, биохимические, физиологические), позволившие успешно достигнуть поставленной цели и решить задачи. Полученные результаты основываются на

обширном экспериментальном материале и обработаны с применением соответствующих статистических методов.

В главе **“Результаты”** подробно представлены полученные автором результаты по исследованию влияния сверхэкспрессии гена рецептора 5-HT₇ в ядрах шва среднего мозга (первая и вторая экспериментальные серии) и фронтальной коре (третья экспериментальная серия) на регуляцию нормального и депрессивно-подобного поведения, а также на функциональное состояние системы 5-HT мозга мышей.

В **обсуждении** Александр Ярославович объясняет и рассматривает наблюдаемые поведенческие эффекты, анализирует ранее полученные результаты о связи рецептора 5-HT₇ с депрессивным поведением с полученными в работе результатами. Отмечается преимущество использованного подхода, поскольку мишенью для воздействия в данном исследовании явились рецепторы 5-HT₇ среднего мозга и фронтальной коры (основные структуры, вовлеченные в этиопатогенез депрессивных состояний), а не рецепторы всего головного мозга, как, например, происходит при введении антидепрессантов.

Заключение кратко отражает описанные результаты исследования. Выводы сформулированы автором четко и грамотно и полностью соответствуют поставленной цели и задачам.

Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации и дает представление об основных разделах работы и полученных результатов.

Замечания и вопросы:

1. Автор неоднократно утверждает, что исследует сверхэкспрессию гена рецептора 5-HT₇, однако в работе используется химерный конструкт, где рецептор слит с EGFP. Есть ли доказательства, что химерный белок не отличается по своим функциональным свойствам от нативного рецептора 5-HT₇? Показано ли, что такой продукт является трансмембранным белком с идентичными свойствами?
2. В работе встречается жаргон. Например, на стр. 25 “рецептор 5-HT₇ был клонирован из кДНК”.
3. “с 39% - 53% гомологией” - имеется ввиду сходство, гомология - абсолютное понятие.
4. На стр. 57 “смесь трифосфатов” - лучше говорить про смесь нуклеозидтрифосфатов.
5. Список публикаций по теме диссертации в автореферате оформлен нестандартно, отсутствуют выходные данные публикации 3.


Безусловно, данные замечания не снижают общее впечатление и не уменьшают научную значимость и качество проведенной работы.

Заключение. Диссертационная работа Родного Александра Ярославовича «Влияние сверхэкспрессии гена 5-HT₇ рецепторов в мозге на регуляцию нормального и депрессивноподобного поведения и пластичность серотониновой системы мозга», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. – физиология человека и животных, является законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача, имеющая существенное фундаментальное значение в физиологии и в частности в молекулярной нейробиологии, а именно, показана структуроспецифичная функция 5-HT₇ рецепторов в формировании депрессивно-подобного поведения. По объему и методологическому уровню выполненных исследований, научной новизне, практической значимости, достоверности полученных результатов и выводов диссертационная работа Родного А.Я. полностью соответствует требованиям ВАК п. 9 «О порядке присуждения ученых степеней» Постановления Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335, от 01.10.2018 г. №1168, с изменениями от 11.09.2021 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 – физиология человека и животных, а ее автор, Родной Александр Ярославович, заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук.

Официальный оппонент:

зам. директора по научной работе ФГБНУ
«Институт молекулярной и клеточной
биологии Сибирского отделения Российской
академии наук (ИМКБ СО РАН, г.
Новосибирск)»

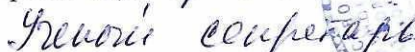
д.б.н., профессор РАН

 / В.А. Трифонов

Дата: « 6 » июня 2023г

Подпись д.б.н., профессора В.А. Трифонова

Заверяю:  Ахмерова А.П.

 Ученый секретарь

Дата: « 6 » июня 2023г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук»

630090, Россия, Новосибирская область, г. Новосибирск, просп. акад. Лаврентьева 8/2

Тел: (383) 363-90-42

Факс: (383) 363-90-78

Е-мэйл: info@mcb.nsc.ru

<https://www.mcb.nsc.ru/>