

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу  
Родного Александра Ярославовича  
«Влияние сверхэкспрессии гена 5-НТ<sub>7</sub> 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

### Актуальность темы диссертационного исследования

Депрессия является одним из наиболее распространенных патологических состояний организма человека. Миллионы людей во всем мире страдают депрессией, однако, несмотря на достижения в фармакологической терапии, многие пациенты не получают ожидаемого ответа на терапию даже после лечения несколькими лекарствами. Все это говорит о том, что существует острая необходимость в изучении патогенеза такого состояния с целью выявления биомаркеров, которые могли бы не только предсказать ответ на лечение, но и позволить проводить рациональный подбор оптимальной терапии для каждого пациента. Многие симптомы депрессии связаны с нарушением регуляции серотониновой системы мозга, функционирование которой связано с активацией семейства серотониновых рецепторов. Одними из таких рецепторов могут быть рецепторы 5-НТ<sub>7</sub> и 5-НТ<sub>1A</sub>, димеризация которых сопровождается депрессией и влияет на действие антидепрессантов при моделировании на мышах, традиционно используемых для таких экспериментов. Однако точные механизмы взаимодействия серотониновых рецепторов между собой в разных отделах мозга, ведущие к нарушению регуляции функции 5-НТ системы при депрессивных расстройствах, остаются до конца не исследованными. Поэтому поставленная в настоящей работе цель,

направленная на изучение влияния экспрессии гена 5-HT<sub>7</sub> рецепторов в ядрах шва среднего мозга и фронтальной коре на регуляцию нормального и депрессивно-подобного поведения, а также на функциональное состояние 5-HT системы мозга мышей, является актуальным исследованием в современной физиологии.

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

Многие результаты данной работы были получены впервые. Так, исследование роли 5-HT<sub>1A</sub> и 5-HT<sub>7</sub> рецепторов в регуляции серотониновой системы мозга впервые показало, что увеличение содержания 5-HT<sub>7</sub> может быть одним из механизмов развития депрессии. Впервые показано, что это происходит в среднем мозге, что может повысить уровень обмена серотонина и ингибировать пресинаптические 5-HT<sub>1A</sub> рецепторы. Получены новые данные о том, что сверхэкспрессия 5-HT<sub>7</sub> рецептора во фронтальной коре мозга может объяснить механизмы формирования депрессивно-подобного поведения у животных.

#### **Значимость для науки и практики полученных в диссертации результатов**

Результаты диссертационной работы Родного А.Я., без сомнения, важны для фундаментальной науки, так как вносят вклад в понимание роли 5-HT<sub>1A</sub> и 5-HT<sub>7</sub> рецепторов в регуляции серотониновой системы мозга. Результаты показали разнонаправленные эффекты увеличения содержания 5-HT<sub>7</sub> рецепторов в среднем мозге и во фронтальной коре, что важно для понимания механизмов формирования депрессивно-подобного поведения у животных. Результаты исследования имеют также потенциал использования на практике, в частности фармакологии, так как могут послужить основой для разработки новых препаратов, мишенью которых будут гомо- или гетеродимеры рецепторов в разных отделах головного мозга.

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

В соответствии с поставленной целью исследования – изучение влияния экспрессии гена 5-HT<sub>7</sub> рецепторов в ядрах шва среднего мозга и фронтальной коре на регуляцию нормального и депрессивно-подобного поведения, а также на функциональное состояние 5-HT системы мозга мышей, автором сформулированы и обоснованы задачи исследования. Их успешному решению во многом способствовало применение адекватных высокотехнологичных методических подходов. Выбранные методы исследования соответствуют поставленным задачам. Положения, выносимые на защиту, научно обоснованы, выводы логически вытекают из полученных результатов и являются непосредственным итогом проведенного Родным А.Я. исследования. Достоверность полученных результатов подтверждена адекватно проведенным статистическим анализом. По теме диссертации автором опубликовано 12 научных работ, из них 5 полнотекстовых статей в ведущих рецензируемых журналах и изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией РФ. Результаты докладывались на 7-ми международных научных конференциях.

### **Рекомендации по использованию результатов диссертационной работы**

В ходе выполнения диссертационной работы получены новые фундаментальные знания о роли 5-HT<sub>7</sub> рецепторов в развитии депрессии. Эти знания дополняют программы обучения по нейрофизиологии для студентов биологических и медицинских специальностей ФЕН НГУ и ИМПЗ НГУ. Полученные данные также могут быть использованы следующими научными коллективами для продолжения и развития тематики исследования: Институт мозга человека им. Н.П. Бехтеревой (Лаборатория направленной внутримозговой доставки препаратов.), Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН (Лаборатория молекулярной нейробиологии), «ЗАО «Фарм-Холдинг» (Лаборатория разработки

лекарственных средств), «РегМед проф» (Разработка новых и воспроизведенных готовых лекарственных средств), Научно-образовательный и инновационный центр химико-фармацевтических технологий (Совместная научная лаборатория комбинированных методов изучения механизмов и моделирования действия лекарственных препаратов).

### **Структура и основное содержание диссертации**

Диссертационная работа Родного А.Я. изложена на 111-ти страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, 4-х глав результатов, обсуждения результатов, заключения, выводов, списка используемых сокращений и списка литературы. Работа иллюстрирована 37 рисунками, содержит 1 таблицу. Список литературы состоит из 170 источников.

Во введении автор достаточно детально обосновывает актуальность выбранного исследования с акцентом на роль серотониновых рецепторов в развитии депрессии, приводит информацию о степени разработанности решаемой научной проблемы, четко формулирует цель и задачи исследования, подчеркивает их научную новизну, а также обозначает теоретическую и практическую значимость исследования, степень достоверности полученных результатов. Основные положения, выносимые на защиту, отражают основные результаты исследования и возражений не вызывают. Далее следует информация об апробации результатов и публикациях, вкладе автора с благодарностями научному руководителю и коллегам, краткая информация о структуре и объеме работы.

В главе «Обзор литературы» автор представляет современные данные о серотониновой системе и ее рецепторах, приводит схему синтеза и деградации серотонина. Достаточно большой объем обзора посвящен анализу 5-HT рецепторов, их современной классификации, распределению в головном мозге. Отдельной главой представлена информация об ауто- и

гетерорецепторах 5-НТ<sub>1А</sub>, их функциональных особенностях, канонических и неканонических сигнальных каскадах, которые они запускают. Далее описаны механизмы десенситизации 5-НТ<sub>1А</sub> рецепторов, влияние последних на тревожность, агрессивное и депрессивное поведение, приводится характеристика 5-НТ<sub>7</sub> рецепторов, их участие в канонических и неканонических сигнальных каскадах. Здесь рассматриваются также механизмы их регуляции с учетом гомо- или гетеродимеризации, разнообразные физиологические функции. Отдельной главой представлен анализ развития исследований с применением моделирования депрессии и депрессивно-подобных состояний, включающий модели первичной и вторичной депрессии на животных, а также генетические модели депрессии. Заключительная глава обзора литературы посвящена вирусным векторам как инструментам нейробиологии, методическому подходу, примененному в данной диссертационной работе.

Во второй главе «Материалы и методы» подробно описаны используемые методы клеточной, молекулярной биологии и биохимии, такие как: поддержание клеточной линии и трансфекция, наработка вирусных частиц, получение первичной нейрональной культуры, генно-инженерные методы, стереотаксический метод, флуоресцентная микроскопия, полимеразная цепная реакция в реальном времени, хроматографический анализ биогенных аминов, определение концентрации белка по протоколу Бредфорда, Western-Blot анализ. Физиологические методы включали поведенческие тесты (Тест «открытое поле» и «принудительное плавание»). В целом, в работе использован широкий арсенал современных методов исследования, что позволяет решить поставленную цель и задачи. Все результаты получены на достаточном количестве экспериментального материала, обработаны подходящими статистическими методами.

В главе 3 «Результаты» представлены собственные результаты по исследованию влияния переэкспрессии гена 5-НТ<sub>7</sub> рецепторов в ядрах шва среднего мозга и фронтальной коре на регуляцию нормального и

депрессивно-подобного поведения, а также на функциональное состояние 5-HT системы мозга мышей. Было убедительно доказано, что введение аденоассоциированного генетического конструкта в область ядер шва среднего мозга и фронтальную кору мышей линии C57Bl/6J, а также в область ядер шва среднего мозга мышей ASC, привело к увеличению уровня экспрессии гена 5-HT<sub>7</sub> рецепторов и появлению белка 5-HT<sub>7</sub>-EGFP в данных структурах мозга. Сверхэкспрессия гена 5-HT<sub>7</sub> рецепторов в ядрах шва среднего мозга мышей линии C57Bl/6J вызывает существенное снижение уровня поведенческого отчаяния в тесте принудительного плавания, ожидаемое изменение экспрессии 5-HT<sub>1A</sub> и 5-HT<sub>7</sub> рецепторов во фронтальной коре и повышение уровня обмена серотонина во фронтальной коре и среднем мозге. На генетической модели депрессии с применением мышей линии ASC/Isq показано, что сверхэкспрессия гена 5-HT<sub>7</sub> рецепторов в ядрах шва среднего мозга сопровождается существенным антидепрессивным действием в тесте принудительного плавания и открытого поля, изменение экспрессии 5-HT<sub>1A</sub> и 5-HT<sub>7</sub> рецепторов в гиппокампе и повышение уровня обмена серотонина во всех исследованных структурах мозга. Интересные результаты получены и при исследовании фронтальной коры мышей линии C57Bl/6, показавшие, что высокий уровень экспрессии гена 5-HT<sub>7</sub> рецепторов приводит к существенному усилению депрессивно-подобного поведения в тесте принудительного плавания, снижению уровня обмена серотонина в среднем мозге и уровня серотонина во фронтальной коре без существенных изменений в экспрессии 5-HT<sub>1A</sub> и 5-HT<sub>7</sub> рецепторов.

Проведенные исследования позволили сделать вывод, что 5-HT<sub>7</sub> рецептор вовлечен в формирование депрессивно-подобного поведения, причем в области ядер шва среднего мозга он подавляет депрессивно-подобное поведение, а во фронтальной коре, напротив, оказывает продепрессивное действие.

В главе 4 Родный А. Я. обсуждает наблюдаемые поведенческие эффекты при сверхэкспрессии 5-HT<sub>7</sub> рецепторов в разных структурах мозга

мышей, анализирует ранее полученные результаты о связи 5-HT<sub>7</sub> рецептора с депрессивным поведением, сопоставляя их с полученными результатами в данном исследовании. Автор отмечает преимущество использованного подхода, основанное на исследовании конкретных 5-HT<sub>7</sub> рецепторов определенных структур мозга, таких как средний мозг и фронтальная кора. Автор также отмечает, что результаты проведенного исследования согласуются с общими представлениями о 5-HT<sub>7</sub>/5-HT<sub>1A</sub> гетеродимер-зависимом снижении ингибирующего влияния 5-HT<sub>1A</sub> ауторецепторов на метаболизм 5-HT, а также о роли 5-HT<sub>1A</sub>/5-HT<sub>7</sub> гетеродимеризации в регуляции депрессивного поведения.

В Заключение автор справедливо отмечает, сверхэкспрессия 5-HT<sub>7</sub> рецептора в ядрах шва среднего мозга существенно повлияла на функционирование 5-HT-системы мозга и уровень поведенческого отчаяния как у "недепрессивных" мышей C57Bl/6J, так и у "депрессивных" мышей ASC. Такие результаты важны для дальнейшего исследования проблемы расстройств поведения, в частности, депрессии и их фармакологической коррекции.

Пять выводов, сделанных диссертантом, обоснованы, они отражают основные результаты исследования и соответствуют поставленным задачам.

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

Принципиальных замечаний по диссертационной работе у меня нет. При ее прочтении у меня появились небольшие замечания и вопросы для научной дискуссии:

1. В тексте диссертации можно встретить неудачные выражения:  
«...исследуется новый экспериментальный механизм» (с. 9).  
«...мишенью для которых будут являться взаимодействия между рецепторами...» (с. 9).

- «... предположить участие гетеродимеризации рецепторов 5-HT<sub>7</sub> и 5-HT<sub>1A</sub> в развитии депрессии и действии антидепрессантов» (с. 49).
2. На основании изменения количества 5-HT рецепторов можно ли предполагать, что их гетеродимеризация является одной из причин развития депрессии?
  3. Как могут повлиять выявленные различия в экспрессии 5-HT<sub>7</sub> рецепторов в разных структурах мозга на применение антидепрессантов? Предполагает ли этот факт использование более селективных препаратов для лечения депрессивного состояния?

### **Заключение**

Диссертационная работа Родного Александра Ярославовича «Влияние сверхэкспрессии гена 5-HT<sub>7</sub> 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, а именно, показано участие 5-HT<sub>7</sub> рецепторов в формировании депрессивноподобного поведения и пластичности серотониновой системы мозга мышей. 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 заслуживает присуждения искомой степени.

Официальный оппонент:

Руководитель лаборатории молекулярных механизмов канцерогенеза

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины»

д.б.н., профессор

/  / Л.Ф. Гуляева

Дата: «10» мая 2023г.

Подпись д.б.н., профессора Л.Ф. Гуляевой

Заверяю:





Начальник Отдела кадров

Минеева О.М.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины»

Дата: «10» мая 2023г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» 630117, Россия, Новосибирская область, г. Новосибирск, улица Тимакова, 2.

Телефон: +7 (383) 274-95-80. E-mail: [director@frcftm.ru](mailto:director@frcftm.ru). Сайт: [www.frcftm.ru](http://www.frcftm.ru).