

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной работе
Санкт-Петербургского государственного университета


С.В. Аплонов

«25» мая 2018 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

На диссертацию Липиной Татьяны Викторовны «Вклад точечной мутации гена DISC1 (Disrupted-in-Schizophrenia-1) в патогенез шизофрении: экспериментальное исследование», представленной на соискание учёной степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – «физиология»

Актуальность избранной темы

Шизофрения является неизлечимым многофакторным заболеванием, этиологию которого составляет генетическая компонента и патогенные факторы окружающей среды. Исследование молекулярно-генетических основ шизофрении является одним из перспективных научных направлений психиатрии, что определяет актуальность данного исследования в теоретическом и практическом плане. Применение экспериментальных моделей шизофрении, комбинирующих как генетические, так и средовые воздействия, является неоспоримым преимуществом в данной области нейробиологии, поскольку позволяет применить чёткий дизайн, многосторонние и комплексные исследования. Идентификация молекулярно-клеточных механизмов шизофрении является одним из перспективных направлений в области психиатрии, что определяет актуальность данного исследования в теоретическом и практическом плане.

Диссертационная работа Татьяны Викторовны Липиной направлена на решение фундаментальной проблемы - это выявление этиологии шизофрении. Одним из наиболее прямых вариантов для решения этой проблемы явилось создание генетической модели с точечной мутацией в гене DISC1 (disrupted-in-schizophrenia-1), имеющей отношение к шизофреноподобной патологии и являющейся надежным инструментом для исследования межбелковых связей. В настоящее время, одним из новых подходов исследования

биохимических механизмов шизофрении является выявление вклада нарушенных межбелковых взаимодействий на уровне *in vivo* модели. Изучение межбелкового функционирования на модели DISC1 играет важную роль, как для фундаментальной науки, так и для практической медицины.

Связь работы с планами соответствующих отраслей науки и народного хозяйства

Диссертационная работа Липиной Татьяны Викторовны на тему «Вклад точечной мутации гена DISC1 (Disrupted-in-Schizophrenia-1) в патогенез шизофрении: экспериментальное исследование» выполнена в соответствии с приоритетными научными задачами, утвержденными президиумом Совета при Президенте Российской Федерации по науке и образованию (протокол № 10 от 24 февраля 2014 года), включая:

«Мозг – исследование и моделирование структуры, функций и механизмов когнитивной деятельности с целью изучения природы патологий, разработки принципиально новых медицинских технологий и создания «мозго-машинных систем»;

«Исследование структуры и функций биоорганических систем с целью изучения природы социально значимых заболеваний и разработки новых лекарственных препаратов»

Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В ходе работы впервые создана генетическая линия мышей с точечной мутацией во 2м экзоне гена DISC1, приводящей к замене лейцина на пролин в позиции 100 аминокислоты протеина DISC1 (название линии DISC1-L100P; 100P/100P). Установлены следующие маркеры шизофреноподобного поведения у 100P/100P мутантных мышей: гипреактивность, нарушения престаимпульного торможения, латентного торможения и дефицит рабочей памяти. Данные показатели селективно нормализовались антипсихотиком - клозапином, но не антидепрессантом - бупропионом.

Данные биохимического анализа впервые обнаружили пониженное связывание DISC1-L100P протеина с фосфодиэстеразой-4В (PDE4B) и гликоген-синтаз киназой-3 (GSK-3), вместе с повышенным взаимодействием с дофаминовыми рецепторами 2го типа (D2). Сниженное взаимодействие между DISC1-L100P и GSK-3 сопровождалось низким уровнем фосфорилирования GSK-3, свидетельствуя о повышенной ферментативной активности GSK-3. Фармакологическое и генетическое ингибирование GSK-3 нормализовали шизофреноподобное поведение 100P/100P мутантов. Впервые выявлено синергетическое взаимодействие между фармакологическими ингибиторами PDE4 и GSK-

3. С учетом того, что GSK-3 активация зависит от стимуляции D2 рецепторов, было предположено, что DISC1 регулирует функциональность D2 рецепторов и, соответственно, функционирование дофаминовой системы головного мозга. Впервые обнаружено наличие функционального взаимодействия между DISC1 и D2 рецепторами. Показано, что взаимодействия между DISC1 и D2 рецепторами усилены как в стриатуме постмортальных образцов больных шизофренией, так и на генетической модели шизофрении - 100P/100P линии мышей. Впервые установлены антипсихотические свойства пептида, разрывающего усиленные взаимодействия между DISC1 и D2 рецепторами, корректируя шизофреноподобное поведение 100P/100P мышей.

Впервые продемонстрировано взаимодействие между генетической предрасположенностью к шизофреноподобному поведению у гетерозиготных 100P⁺ мышей и внутриутробной материнской иммунной активацией (МИА), а также вклад провоспалительного цитокина, интерлейкина-6 (ИЛ-6), в патогенез шизофреноподобного поведения на гибридной модели - 100P⁺ x МИА, верифицируя патогенность 100P мутации. МИА селективно провоцировала шизофреноподобное поведение именно у 100P гетерозиготных мышей, но не у 31L гетерозигот, подтверждая вклад МИА в патогенез шизофрении, но не депрессии и дополнительно доказывая роль 100P мутации в патогенезе этой патологии.

На генетической модели 100P/100P установлена отставленная манифестация шизофреноподобного поведения в возрасте 12-16 недель. Хроническое введение вальпроата до начала проявления шизофреноподобного поведения у 100P/100P мышей предотвращало психопатологическое поведение. По данным транскриптомного анализа отделов головного мозга идентифицирован глиатрансмиттер липокалин-2 (Lcn2), вовлеченный в эффекты 100P мутации, вальпроата и их совместном взаимодействии. Установлены достоверные корреляционные сопряжения уровней Lcn2 с количеством астроцитов и сенсорно-моторной фильтрацией информации у 100P/100P генетической линии мышей. Данные корреляционного анализа указывают, что Lcn2 может являться молекулярным индексом ранней диагностики шизофрении, а также терапевтической мишенью для создания превентивной терапии данного заболевания.

Значимость для науки и производства (практики) полученных автором диссертации результатов.

Теоретическая и практическая значимость работы определяется доказательством соответствия генетической линии 100P/100P критериям модели шизофрении, возможности её использования для исследований молекулярно-клеточных и

нейробиологических механизмов шизофрении, связанных с нарушением развития нейронов, а также патологии дофаминергической системы головного мозга. Использование 100P/100P генетической модели шизофрении также полезно для оценки эффективности терапевтических воздействий как в целях предотвращения развития заболевания, так и его лечения. Выявленные в работе эффекты PDE4, GSK-3 блокаторов и пептида TAT-D2per демонстрируют терапевтический потенциал данных соединений в качестве будущих антипсихотических препаратов. Разработана гибридная модель шизофреноподобного поведения, сочетающая в себе генетический (100P/+⁺) и средовой (Материнская Иммунная Активация) факторы и которая также может быть использована в доклинических исследованиях шизофрении. Выявленная взаимосвязь между Lcn2, уровнем астроцитов и проявлением шизофреноподобного поведения на генетической модели 100P/100P указывает на важность нейроглиальных взаимодействий в патогенезе данного заболевания, а Lcn2 может быть предложен в качестве биомаркера для дальнейших исследований в области разработки биомаркеров для ранней диагностики шизофрении и молекулярных мишеней для создания превентивной терапии.

Личный вклад автора

В цикле исследований, составляющих диссертационную работу, Т.В. Липиной принадлежит ведущая роль в инициации направления экспериментов, выборе методических подходов, анализе полученных результатов и в опубликовании статей и монографий. Автор диссертации построила свою работу логично и по четко разработанному плану.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Результаты, выводы и практические рекомендации диссертационной работы Липиной Татьяны Викторовны на тему «Вклад точечной мутации гена DISC1 (Disrupted-in-Schizophrenia-1) в патогенез шизофрении: экспериментальное исследование» могут быть рекомендованы для использования учебных пособий.

Количество печатных работ

Результаты, полученные в процессе выполнения исследования, опубликованы в 15 международных статьях, представлены на многочисленных конференциях, а также изложены в виде отдельных глав в трех книгах.

Содержание диссертации, ее завершенность в целом, замечания по оформлению.

Диссертация построена по традиционному плану, изложена на 219 листах машинописного текста, подкрепленных 7 таблицами и иллюстрированными 45 рисунками, и 1 Приложения, состоит из введения, 8 основных глав, выводов, списка литературы, включающего 567 источников.

Во введении автором обоснована актуальность, научная новизна, практическая и теоретическая значимость, сформулирована цель, задачи исследования и положения, выносимые на защиту.

В обзоре литературы подробно освещены такие аспекты как основные механизмы шизофрении, функциональная роль DISC1, экспериментальные модели шизофрении, биомаркеры и терапевтические мишени для создания антипсихотиков нового поколения.

В разделе, посвящённом материалам и методам исследования, детально описаны экспериментальные животные, методики поведенческого тестирования, биохимические методы, микродиализ, иммуногистохимия, фармакология и статистический анализ данных.

В 4-7 разделах автором приведены результаты собственных исследований, подробно иллюстрированные таблицами и рисунками, часть данных вынесена в Приложение 1. Описание результатов исследования сопровождается интерпретацией полученных данных.

Восьмая глава посвящена обсуждению полученных результатов исследования при сравнении с имеющимися данными в литературе, представлена трактовка собственных

результатов. Полученные данные систематизированы в семи выводах, которые полностью соответствуют цели и задачам исследования.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Работа Липиной Т.В. является новым и логически завершенным исследованием, однако столь объемная работа не может быть полностью свободна от недостатков, к которым можно отнести, например, нечеткое описание методов, но эти недочёты не снижают общей ценности работы.

Заключение

Диссертационная работа Липиной Татьяны Викторовны на тему «Вклад точечной мутации гена DISC1 (Disrupted-in-Schizophrenia-1) в патогенез шизофрении: экспериментальное исследование» является большим, целенаправленным, отлично организованным, комплексным и законченным научным трудом. По объему, актуальности, научной новизне и практической значимости диссертационная работа полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней» (утв. Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013г №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора биологических наук, а ее автор – Татьяна Викторовна Липина заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – Физиология.

Отзыв обсужден и утвержден на семинаре Лаборатории нейробиологии и молекулярной фармакологии института трансляционной биомедицины СПбГУ 23 мая 2018 г.

Директор института трансляционной биомедицины



Р.Р. Гайнетдинов

Данные об авторе отзыва:

Рауль Радикович Гайнетдинов, директор института трансляционной биомедицины, Санкт-Петербургский государственный университет, Университетская наб. 7-9
телефон: +7 911 7316868, e-mail: r.gainetdinov@spbu.ru

Подпись Рауля Радиковича Гайнетдинова заверяю

ЗАМЕСТИТЕЛЬ НАЧАЛЬНИКА
УПРАВЛЕНИЯ КАДРОВ
ГУОРП
ОС СУВОРОВА

