

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научно-исследовательской
работе ФГАОУ ВО Первый МГМУ
имени И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)
кандидат медицинских наук, доцент

Д.В. Бутнару

2021 г.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

**ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский
университет имени И. М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)**

на основании решения межкафедральной научно-методической конференции кафедры фармакологии Института фармации имени А.П. Нелюбина, лаборатории фармакокинетики и метаболомного анализа Института трансляционной медицины и биотехнологии, кафедры промышленной фармации Института профессионального образования ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), лаборатории судебно-химических и химико-токсикологических исследований Федерального государственного бюджетного учреждения Российский центр судебно-медицинской экспертизы Минздрава России.

Диссертация Маркина Павла Александровича на тему «Методология фармакометаболического подхода в исследовании фармакологических эффектов физиологически активных веществ на модели *Danio rerio*» выполнена на базе кафедры фармакологии Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет).

Маркин Павел Александрович, 1996 года рождения, гражданство РФ, окончил ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет) в 2018 г. по специальности «Фармация».

В 2019 году зачислен в аспирантуру на очную форму обучения по основной профессиональной образовательной программе высшего образования программе подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре по специальности 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология. Отчислен в 2021 году в связи с окончанием обучения.

Справка о сдаче кандидатских экзаменов от 04 декабря 2020 г. № 1141/Ао выдана ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

В настоящее время работает в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Российский центр судебно-медицинской экспертизы Министерства здравоохранения Российской Федерации» в должности младшего научного сотрудника лаборатории судебно-химических и химико-токсикологических исследований.

Научный руководитель:

Тарасов Вадим Владимирович – доктор фармацевтических наук, доцент, профессор кафедры фармакологии Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Научный консультант:

Апполонова Светлана Александровна – кандидат химических наук, заведующий лабораторией фармакокинетики и метаболомного анализа Института трансляционной медицины и биотехнологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Текст диссертации был проверен в системе «Антиплагиат» и не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов.

По итогам обсуждения диссертационного исследования по теме: «Методология фармакометаболического подхода в исследовании фармакологических эффектов физиологически активных веществ на модели

Danio rerio», представленного на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология, принято следующее заключение:

Оценка выполненной соискателем работы

Диссертационная работа Маркина Павла Александровича на тему: «Методология фармакометаболического подхода в исследовании фармакологических эффектов физиологически активных веществ на модели *Danio rerio*», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология, является законченной научно-квалификационной работой, полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям и представляет собой законченное, самостоятельное исследование.

Диссертационная работа посвящена решению актуальной задачи экспериментальной фармакологии – использованию фармакометаболического подхода в исследовании фармакологических эффектов физиологически активных веществ. В качестве модельного животного используется *Danio rerio* – вид пресноводных лучеперых рыб, которые на данный момент все чаще применяются в исследованиях эффектов физиологически активных веществ. Используемый автором комплексный подход включает поиск целевых метаболических путей, необходимых для оценки действия фармакологических веществ на ЦНС, с использованием зебрафиш как модельного организма, проведение фармакометаболических исследований с использованием как референтного вещества, так и вещества с малоизученными эффектами, а также включает проведение подтверждающих классических экспериментов по исследованию поведенческой активности зебрафиш.

В практической части диссертационного исследования использовались наиболее современные методы. Полученные автором данные не противоречат опубликованным ранее наблюдениям с использованием других животных моделей. Выводы работы являются логичными и следуют из

представленных результатов. Материалы диссертации оформлены корректно, изложены доступным языком.

Актуальность темы диссертационного исследования

Фармакометаболизм является сравнительно молодой и стремительно развивающейся областью знаний. Фармакометаболизм изучает молекулярные механизмы действия лекарственных средств или иных ксенобиотиков, с целью изучения ответов на введение лекарственных средств или ксенобиотиков.

Модернизация методов исследования фармакологических эффектов относится не только к поиску новых методологий исследования, но и к расширению спектра биологических моделей. *Danio rerio* широко использовались в изучении генетики и биологии развития позвоночных. Большое количество научных работ установили высокое генетическое и физиологическое сходство *Danio rerio* и млекопитающих. Они обладают небольшими размерами, поддержание систем жизнеобеспечения и размножения *Danio rerio* намного дешевле традиционно используемых в экспериментальной фармакологии млекопитающих.

Применение фармакометаболического подхода для исследования химических субстанций на *Danio rerio* является перспективой начала широкого использования этих рыб как биологической модели для быстрого и высокоэффективного скрининга фармакологических эффектов веществ различной химической структуры.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации

Автор лично сформулировал идею и гипотезу настоящего диссертационного исследования, разработал его детализированный план. Автору принадлежит ведущая роль в проведении экспериментальных исследований, анализе и обобщении результатов. Автор лично проводил эксперименты на животных, анализы методами ГХ-МС и ВЭЖХ-МС/МС, статистическую обработку и интерпретацию результатов. Вклад автора является определяющим на всех этапах исследования, включая постановку

задач, их теоретически-экспериментальную реализацию до обсуждения результатов в научных публикациях, докладах и внедрении в практическое использование. Главы диссертации и автореферат написаны автором лично.

Степень достоверности результатов проведенных исследований

Достоверность представленных в работе результатов подтверждается достаточным количеством повторных измерений, выполненных на сертифицированном оборудовании, а также достаточным количеством повторов экспериментов, необходимых для получения статистически значимых результатов; выполнением всех экспериментов над животными в соответствии с утвержденным на заседании Локального этического Комитета ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет) протоколом исследований; использованием описанных в ведущих зарубежных изданиях методов исследований; применением корректных методик статистической обработки данных. Проанализирован достаточный объем литературных источников.

Научная новизна результатов проведенных исследований

Автором исследовано влияние широкого диапазона доз диазепама на профиль нейромедиаторов зебрафиш, показывающие воздействие диазепама на различные системы нейромедиаторов (ГАМКергическую, дофаминергическую, серотонинергическую, и т.д.).

Получены данные о воздействии синтетического каннабиноида 5F-АПИНАК на концентрации метаболитов различных нейромедиаторных систем. Обнаружены корреляционные зависимости между концентрациями эндогенных метаболитов и поведенческих реакций.

Практическая значимость проведенных исследований

В ходе диссертационного исследования были получены данные о влиянии диазепама на профиль нейромедиаторов и эндогенных веществ, связанных с метаболизмом нейромедиаторов, у зебрафиш. Были выявлены изменения концентраций эндогенных метаболитов, относящихся к большому числу систем нейрональной передачи.

Проведено фармакометаболическое профилирование нейромедиаторов у зебрафиш после добавления к среде содержания мальков вещества 5F-АПИНАК, которое является агонистом каннабиноидных рецепторов. Полученные в ходе фармакометаболического анализа данные показали, что исследуемое вещество обладает возможностью действовать различные нейромедиаторные системы зебрафиш.

Проведены исследования, подтверждающие влияние 5F-АПИНАК на ЦНС, а также были найдены корреляции между поведенческими изменениями и концентрациями нейромедиаторов у зебрафиш. Поведенческие изменения у зебрафиш были зафиксированы на протяжении всего диапазона концентраций 5F-АПИНАК.

Ценность научных работ соискателя ученой степени

Научные работы соискателя вносят вклад в формирование фармакометаболического подхода для исследования эффектов физиологически активных веществ с использованием зебрафиш как модельного организма. Ценность исследований подтверждается наличием международных публикаций.

Внедрение результатов диссертационного исследования в практику

Важнейшие положения диссертационной работы используются в учебной деятельности кафедры фармакологии Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), внедрены в производственный процесс Общества с ограниченной ответственностью «Институт аналитической токсикологии» (Красногорский район Московской области).

Этическая экспертиза научного исследования в Локальном этическом комитете

Проведение исследований одобрено Локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (протокол от 11.11.2020 № 31-20).

Научная специальность, которой соответствует диссертация

Работа соответствует паспорту специальности 14.03.06 –
Фармакология, клиническая фармакология.

**Полнота изложения материалов диссертации в работах,
опубликованных соискателем**

По результатам исследования автором опубликовано 10 научных работ, в том числе 1 статья в журнале, включенном в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, 3 статьи в зарубежных научных изданиях, индексируемых Scopus, Web of Science, 6 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций (из них 1 зарубежная конференция).

Статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России:

1. Маркин, П.А. Анализ воздействия нового психоактивного вещества 5F-АПИНАК на концентрации эндобиотиков различных нейромедиаторных систем на примере моделей зебрафиш (*Danio rerio*) и кроликов / П.А. Маркин, К.М. Шестакова, Н.Е. Москалева, В.В. Тарасов, М.В. Савицкий, С.А. Апполонова // *International journal of medicine and psychology*. – 2020. – Т. 5, №3. – С. 123-132.

2. Appolonova, S.A. In vivo and in vitro metabolism of the novel synthetic cannabinoid 5F-APINAC / S.A. Appolonova, C. Palacio, K.M. Shestakova, N.V. Mesonzhnik, A. Brito, R.M. Kuznetsov, P.A. Markin, N.L. Bochkareva, D. Burmykin, M. Ovcharov, G. Musile, F. Tagliaro, S.A. Savchuk // *Forensic Toxicology*. – 2020. – Vol. 1 – Issue 38 – pp. 160-171. (Scopus).

3. Markin, P.A. Short- and long-term exposures of the synthetic cannabinoid 5F-APINAC induce metabolomic alterations associated with neurotransmitter systems and embryotoxicity confirmed by teratogenicity in zebrafish / P.A. Markin, A. Brito, N.E. Moskaleva, F. Tagliaro, M.R. La Frano, M.V. Savitskii, S.A. Appolonova // *Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology*. – 2021. – Vol. 243 – pp. 109000. (Scopus).

4. Markin, P.A. Short- and medium-term exposures of diazepam induce metabolomic alterations associated with the serotonergic, dopaminergic, adrenergic and aspartic acid neurotransmitter systems in zebrafish (*Danio rerio*) embryos/larvae / P.A. Markin, A. Brito, N.E. Moskaleva, F. Tagliaro, V.V. Tarasov, M.R. La Frano, M.V. Savitskii, S.A. Appolonova // Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics. – 2021. – Vol. 38 – pp. 100816. (Scopus).

В иных изданиях:

1. Маркин, П.А. Анализ модели поведения зебрафиш под воздействием нового психоактивного вещества 5F-APINAC / П.А. Маркин, В.В. Тарасов, С.А. Апполонова // Сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции: «Перспективные научные исследования и инновационно-технологические разработки». – Белгород. – 2020. – С. 15-24.

2. Маркин, П.А. Метаболомное профилирование как способ оценки безопасности и/или эффективности физиологически активных веществ / П.А. Маркин, В.В. Тарасов, Ф. Тальяро, С.А. Апполонова // Сборник научных трудов по материалам IV Всероссийской конференции с международным участием «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез». – 2020. – Краснодар. – 2020. – С. 44.

3. Маркин, П.А. Сравнительный анализ моделей поведения зебрафиш и мышей под воздействием нового психоактивного вещества APINAC / П.А. Маркин, В.В. Тарасов, С.А. Апполонова // Сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции «Естествознание, техника, технологии: современные парадигмы и практические разработки». – Белгород. – 2019. – С. 15-24.

4. Шестакова, К.М. Изучение фармакокинетики нового синтетического каннабимиметика 5F-APINAC и его влияния на триптофановый метаболизм / К.М. Шестакова, П.А. Маркин, С.А. Савчук, С.А. Апполонова // Сборник научных трудов по материалам IV Всероссийской конференции с

международным участием “Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез”. – Краснодар. – 2020. – С. 132.

5. Шестакова, К.М. Изучение метаболизма нового синтетического каннабимиметика 5F-APINAC / К.М. Шестакова, П.А. Маркин, В.В. Тарасов, С.А. Савчук // Сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции «Ценность естественно-научного и технического знания в условиях современной техногенной цивилизации». – Белгород. – 2020. – С. 25-38.

6. Markin, P.A. Methodology of the pharmacometabolomic approach in the investigation of the pharmacological effects of physiologically active drugs using Danio rerio model: examples on neurotropic drugs / P.A. Markin, N.Ye. Moskaleva, S.A. Appolonova // Сборник научных трудов по материалам Международной конференции «Scientific research of the SCO countries: synergy and integration». – Пекин. – 2021. – С. 73-78.

Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на научных конференциях:

1. IV Всероссийская конференция с международным участием «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез» (27.09-03.10.2020 г., Краснодар);

2. VIII Всероссийская конференция с международным участием «Масс-спектрометрия и её прикладные проблемы» (14-18.10.2019 г., Москва);

3. 7th International Conference on Novel Psychoactive Substances (NPS) (18-19.10.2021 г., Рим, Италия);

4. 3rd Annual Congress of IPharmS (17-20.02.2021, Тегеран, Иран).

Диссертационная работа соответствует требованиям п. 19 Положения о присуждении ученых степеней ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом от 31.01.2020 г. № 0094/Р, и не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов.

Первичная документация проверена и соответствует материалам, включенным в диссертацию.

Диссертационная работа Маркина Павла Александровича «Методология фармакометаболического подхода в исследовании фармакологических эффектов физиологически активных веществ на модели *Danio rerio*» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология.

Заключение принято на межкафедральной научно-методической конференции кафедры фармакологии Института фармации имени А.П. Нелюбина, лаборатории фармакокинетики и метаболического анализа Института трансляционной медицины и биотехнологии, кафедры промышленной фармации Института профессионального образования ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), лаборатории судебно-химических и химико-токсикологических исследований Федерального государственного бюджетного учреждения Российский центр судебно-медицинской экспертизы Минздрава России.

Присутствовало на заседании 22 человека.

Результаты голосования: «за» – 22 человека, «против» – нет, «воздержалось» – нет, протокол № 9 от 10.06.2021 г.

Председательствующий на заседании

кандидат биологических наук, доцент,
профессор кафедры фармакологии
Института фармации имени А.П. Нелюбина
ФГАОУ ВО Первый Московский государственный
медицинский университет имени И.М. Сеченова
Минздрава России (Сеченовский Университет)

В.Н. Чубарев