

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора, главного научного сотрудника ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» Маркина Сергея Сергеевича на диссертацию Маркина Павла Александровича «Методология фармакометаболического подхода в исследовании фармакологических эффектов физиологически активных веществ на модели *Danio rerio*», представленную к защите в диссертационный совет ДСУ 208.001.11 при ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология

Актуальность темы исследования

Несмотря на наличие большого количества экспериментальных животных моделей, актуальной задачей в области доклинических исследований является поиск альтернативных биологических моделей, пригодных для исследования фармакологических эффектов физиологически активных веществ. Помимо этого, исходя из принципа «трех R» (Replace – изыскание методов исследования химических веществ, заменяющих животных; Reduce – уменьшение количества используемых животных, либо изыскание путей получения большего количества информации от меньшего количества животных; Refine – использование методов, минимизирующих боль и стресс для животных), ученые применяют новые методики исследования фармакологических эффектов.

Метаболический анализ является перспективным методом исследования фармакологических эффектов химических веществ, который продолжает набирать популярность среди мировых ученых. Метаболический анализ эндогенных соединений организма предоставляет огромный объем информации об изменении активности биохимических процессов организма,

что позволяет проводить комплексную оценку вызываемых химическим веществом эффектов.

Danio rerio (зебрафиш) – маленькая пресноводная рыбка семейства карповые. Изначально зебрафиш использовали как модельный организм в изучении развития систем органов в связи с прозрачностью эмбрионов и их быстрым развитием – к четвертому дню после оплодотворения у эмбриона развиваются все важнейшие системы органов. Маленькие размеры, небольшая цена на содержание, высокая фертильность, а также отсутствие необходимости наличия значительного пространства для установки оборудования для водоподготовки сделало зебрафиш крайне популярной биологической моделью.

В этой связи, исследование Маркина Павла Александровича, посвященное разработке методических и методологических основ фармакометаболического анализа с целью исследования фармакологических эффектов физиологически активных веществ с использованием *Danio rerio* в качестве модельного организма, представляется безусловно актуальным.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Для решения поставленных задач автор использовал современное аналитическое оборудование. Дизайн исследования подробно описан автором в соответствующей разделе диссертации, при этом автором проведено достаточное количество экспериментов, повторных измерений, для получения статистически достоверных данных.

Автором проработан достаточный объем литературных источников отечественных и иностранных авторов. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертационной работе, обоснованы, достоверны и логично вытекают из полученных автором экспериментальных данных.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций работы Маркина П.А. следует считать высокой, что обеспечивается как

количественной стороной полученного материала, так и качеством его обработки.

Оценка достоверности и новизны результатов исследования

Применение нецелевого фармакометаболического профилирования доказало возможность использования мальков *Danio rerio* в качестве биологической модели для исследования влияния химических веществ на нейромедиаторные системы.

Автором разработана и валидирована методика анализа концентраций метаболитов нескольких нейромедиаторных систем методом жидкостной хроматографии, сопряженной с tandemным масс-спектрометрическим детектированием.

Автором впервые показано влияние диазепама на концентрации нескольких систем нейромедиаторной передачи с помощью фармакометаболических методов.

Впервые было изучено воздействие синтетического каннабиноида 5F-АПИНАК на концентрации нейромедиаторов ГАМКергической, дофаминергической, холинергической систем нейромедиаторной передачи.

Автором впервые выявлены корреляции между концентрациями нейромедиаторов и результатами поведенческих тестов у мальков зебрафиш.

Значимость полученных автором результатов для науки и практики

Разработка методических и методологических основ фармакометаболического подхода для изучения физиологически активных веществ с использованием мальков зебрафиш в качестве биологической модели является большим вкладом в развитие экспериментальной фармакологии, тем самым работа Маркина П.А. имеет существенный научно-практический интерес.

Разработанная автором методика целевого фармакометаболического профилирования позволяет широко оценить влияние нейротропных веществ на центральную нервную систему, что доказывается проведенными исследованиями влияния диазепама и 5F-АПИНАК. Проведение поиска

зависимостей между фармакометаболическими данными и данными поведенческих тестов позволит внедрить фармакометаболический анализ в рутинное использование лабораториями, занимающимися исследованиями фармакологических эффектов химических веществ.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационное исследование «Методология фармакометаболического подхода в исследовании фармакологических эффектов физиологически активных веществ на модели *Danio rerio*» соответствует формуле специальности 14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология и областям исследований: п. № 3 – «Исследование механизмов действия фармакологических веществ в экспериментах на животных, на изолированных органах и тканях, а также на культурах клеток.»; п. № 4 – «Исследование взаимодействий между организмом и лекарственными средствами, изучение их фармакодинамики, фармакокинетики и метаболизма. Установление связей между дозами, концентрациями и эффективностью лекарственных средств. Экстраполяция фармакологических параметров с биологических моделей на человека.»; п. № 5 – «Экспериментальное (доклиническое) изучение безопасности фармакологических веществ – токсикологические исследования, включающие изучение токсичности потенциальных лекарственных препаратов и их готовых лекарственных форм в условиях острых и хронических экспериментов на животных, а также оценку возможных специфических видов токсичности и проявление нежелательных побочных эффектов (мутагенность, эмбриотоксичность, тератогенность, влияние на репродуктивную функцию, аллергизирующее действие, иммунотоксичность и канцерогенность).»

Публикации

По теме диссертационного исследования автором опубликовано 10 научных статей, из них: 3 статьи опубликованы в журналах, включенных в международные базы данных Scopus и Web of Science, 1 статья – в журнале из Перечня Университета/Перечня ВАК при Минобрнауки. Результаты

диссертационного исследования были представлены в виде устных докладов на научно-практических конференциях всероссийского и международного уровней.

Оценка структуры и содержания диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы», главы с результатами собственных исследований, содержит обсуждение полученных результатов, заключение, выводы и практические рекомендации. Список литературы включает 42 отечественных и 224 зарубежных источника. Работа изложена на 207 страницах печатного текста, содержит 36 рисунков, 14 таблиц, 1 приложение.

Во введении отражена актуальность темы диссертационной работы, описаны цели и задачи исследования, выделены новизна и научно-практическая значимость работы, основные положения, выносимые на защиту.

Первая глава представляет собой подробный обзор научной литературы, в рамках которого автор обсуждает различные методы исследования фармакологических эффектов химических веществ, проводит описание принципов метаболомного анализа и его применимости для исследования фармакологических эффектов, а также описывает особенности *Danio rerio* как модельного организма. В главе «Материалы и методы» автор детально изложил ход эксперимента, дизайн исследования, методы метаболомного анализа, а также методы статистической обработки данных. В третьей главе описаны результаты нецелевого фармакометаболомного профилирования мальков *Danio rerio*, разработки и валидации методики количественного определения метаболитов целевой панели, результаты исследования воздействия диазепама и синтетического каннабиноида 5F-АПИНАК на концентрации нейромедиаторов у мальков зебрафиш, а также, результаты исследования изменений поведенческой активности мальков *Danio rerio* при воздействии 5F-АПИНАК и поиска корреляций между данными фармакометаболомного и поведенческого анализов. Затем следует глава,

посвященная анализу и интерпретации полученных результатов. Основную часть диссертации завершает заключительная часть, содержащая выводы исследования, полностью вытекающие из полученных результатов.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат диссертации полностью соответствует разделам, положениям и выводам диссертационной работы.

Замечания и вопросы к работе

Принципиальных замечаний к изложенным в диссертации материалам нет. При анализе результатов исследования Маркина П.А. в порядке дискуссии хотелось бы получить ответ на следующий вопрос:

Насколько схожи метаболизм, генетические данные зебрафиш и млекопитающих? Возможна ли экстраполяция получаемых в ходе эксперимента на зебрафиш данных на человека?

Приведенный вопрос вызван большим научным интересом к представленной работе и не влияет на ее высокую оценку.

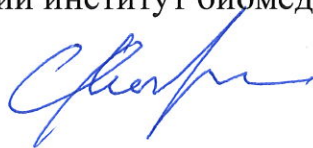
Заключение

Диссертация Маркина Павла Александровича на тему «Методология фармакометаболического подхода в исследовании фармакологических эффектов физиологически активных веществ на модели *Danio rerio*», является законченной научно-квалификационной работой, содержащей решение актуальной научной задачи в области фундаментальной и экспериментальной фармакологии – разработки методических и методологических основ фармакометаболического анализа нейротропных веществ с использованием рыб вида *Danio rerio* как модельного организма. По объему проведенных экспериментальных исследований, новизне, научно-практической значимости диссертационная работа Маркина П.А. соответствует требованиям п.16 «Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М.

Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)», утвержденного приказом ректора от 31.01.2020 г. № 0094/Р, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Маркин П.А., заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология.

Официальный оппонент

доктор медицинских наук (14.01.04 – Внутренние болезни, 14.01.05 – Кардиология), профессор, главный научный сотрудник ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»



Маркин Сергей Сергеевич

Подпись доктора медицинских наук, профессора
Маркина Сергея Сергеевича заверяю

Ученый секретарь

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»
кандидат химических наук



Карпова Елена Анатольевна

«04» 06 2022 г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»
119121, г. Москва, ул. Погодинская, д. 10.

Тел.: 8(499)246-69-80, e-mail: inst@ibmc.msk.ru