

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора, заслуженного деятеля науки, заведующей лабораторией психофармакологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова» Ворониной Татьяны Александровны 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

В настоящее время, как в России, так и за рубежом, проведение доклинических исследований новых лекарственных средств традиционно осуществляется на различных видах животных (мыши, крысы, кролики, кошки, собаки и др.), на которых моделируются различные симптомы заболеваний. Эта классическая методология представлена в Методических рекомендациях по доклиническому изучению веществ с различными видами активности, изложенных в Руководствах по проведению доклинических исследований лекарственных средств, в частности, изданиях Минздравсоцразвития России. Проведение работ с использованием методов на животных является очень дорогим исследованием (например, крыса стоит более 1000 рублей), часто инвазивным и требует сложного оборудования. Поэтому в настоящее время, с целью оптимизации исследований проводится интенсивный поиск новых экспериментальных методов выявления фармакологической активности химических соединений.

Среди них существенную перспективу имеет метаболомный (фармакометаболический) подход, который состоит в изучении влияния химических соединений на комплекс эндогенных веществ, участвующих в регуляторных процессах организма, и позволяет оценить различные формирующие факторы действия исследуемых веществ. Особую ценность этот подход представляет при проведении скрининга большого числа соединений.

На данный момент перспективным модельным организмом для изучения фармакологических эффектов химических веществ является рыба зебрафиш, или *Daniorerio*. Полное морфологическое описание этой рыбки было осуществлено в 1995 году Kimmel и соавт., и с этого времени популярность зебрафиш как модельного организма постоянно растет. Ранее используемые для изучения биологии развития, эмбрионы и мальки зебрафиш в настоящее время выступают в качестве модельного организма при исследовании действия химических веществ на центральную нервную

систему, а также при изучении острой и хронической токсичности. Предпринятое в настоящем исследовании расширение спектра использования зебрафиш (*Daniorerio*) как биологической модели позволит увеличить производительность и эффективность исследований, связанных с изучением фармакологических эффектов химических веществ.

Таким образом, диссертационная работа П.А. Малкина, посвященная методологии фармакометаболического подхода в исследовании фармакологических эффектов физиологически активных веществ на модели зебрафиш (*Danio rerio*), посвящено актуальной проблеме и имеет существенную теоретическую и практическую значимость.

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

Диссертационная работа выполнена на современном научно-методическом уровне. Разработанные методики фармакометаболического анализа были валидированы согласно отечественным и зарубежным регуляторным документам. Дизайн исследования подробно описан автором в соответствующей разделе диссертации и 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.

Оценка достоверности и новизны результатов исследования

С помощью фармакометаболического метода автором впервые доказана возможность использования мальков зебрафиш (*Daniorerio*) в качестве биологической модели для исследования влияния химических веществ на нейромедиаторные системы и разработана оригинальная методика одновременного анализа концентраций метаболитов важнейших нейромедиаторов.

Автором впервые показано влияние диазепама (основной известный механизм действия которого определяется связыванием с бензодиазепиновым рецептором в ГАМК-бензодиазепиновом рецепторном комплексе) на концентрации метаболитов серотонинергической и дофаминергической систем, системы аспартата, а также кинуренинового пути метаболизма триптофана на модели мальков зебрафиш.

Впервые изучено воздействие синтетического каннабиоида 5F-АПИНАК на концентрации нейромедиаторов, в ходе которого были установлены изменения уровней дофамина, ГАМК, ацетилхолина.

Впервые выявлены статистически значимые корреляции между результатами фармакометаболического анализа и поведенческих тестов на модели мальков зебрафиш.

Значимость полученных автором результатов для науки и практики

Результаты диссертационной работы, выполненной Маркиным П.А., имеют существенный научно-практический интерес, поскольку направлены на решение важной задачи по использованию фармакометаболического анализа для целей изучения фармакологических эффектов химических веществ, а также исследует возможность использования зебрафиш в качестве биологической модели.

Автором исследовано влияние нейротропных веществ на профиль нейромедиаторов и их метаболитов у мальков *Daniorerio*. Ценность разработанного фармакометаболического подхода состоит в том, что он позволяет оценить влияние вещества одновременно на несколько нейромедиаторных систем «в одном анализе». Также проведен поиск корреляционных зависимостей между результатами фармакометаболического анализа и поведенческих тестов, что дополняет знания о возможностях использования метаболомного подхода в доклинических исследованиях.

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».

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

Работа изложена на 207 страницах машинописного текста, иллюстрирована 36 рисунками, 14 таблицами, содержит 1 приложение. Построение диссертации традиционное, соответствует ГОСТ. Диссертация включает введение, обзор литературы, главу с описанием материалов и методов исследования, главу собственных исследований, содержит обсуждение полученных результатов, заключение, выводы и практические рекомендации. Литературный указатель содержит 266 ссылок на научные работы, опубликованные в основном за последние 10 лет. Диссертация написана хорошим литературным языком, легко читается.

Обзор литературы посвящен описанию применимости метаболомного анализа в трансляционной медицине и доклинических исследованиях и дано описание *Daniorerio* как биологической модели.

Во второй главе «Материалы и методы» автор представил дизайны исследований, методы с их подробным описанием и статистический аппарат, использованный при обработке данных.

В третьей главе автор изложил результаты собственных исследований нецелевого фармакометаболомного анализа, по результатам которого в дальнейшем была сформирована целевая панель эндогенных метаболитов, разработана и валидирована методика количественного определения метаболитов целевой панели. Далее, было проведено исследование воздействия диазепама и синтетического каннабиноида 5F-АПИНАК на концентрации нейромедиаторов у мальков *Daniorerio*. Также, автором было проведено исследование изменений поведенческой активности мальков *Daniorerio* при воздействии 5F-АПИНАК и поиск корреляций между данными фармакометаболомного и поведенческого исследования.

Обсуждение полученных результатов представлено в отдельной главе, в которой автор проводит анализ собственных результатов в сравнении с данными, приведенными в научной литературе.

Выводы диссертационной работы обоснованы и соответствуют поставленным задачам исследования.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат диссертации отражает основное содержание диссертационного исследования и полностью соответствует разделам, положениям и выводам диссертационной работы.

Замечания и вопросы к работе

Принципиальных замечаний и возражений по содержанию диссертационной работы не имею. Вместе с тем, возникли следующие вопросы, требующие дополнительного пояснения и уточнения:

1. В ходе работы автором были исследованы два вещества: диазепам- препарат группы бензодиазепинов, и синтетический каннабиноид 5F-АПИНАК. Можно ли с помощью комплекса разработанных методик, используя зебрафиш как биологическую модель, исследовать химические вещества иных групп и обладающих другими механизмами действия?

2. Чем можно объяснить увеличение концентраций дофамина при воздействии низких доз диазепама?

3. При введении 5F-АПИНАК было обнаружено дозозависимое уменьшение общего пройденного расстояния мальками. Корреляцией с какими метаболитами можно объяснить оказываемый 5F-АПИНАК фармакологический эффект?

Все приведенные выше вопросы не затрагивают существа работы и сформулированы в плане научной дискуссии.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Маркина Павла Александровича «Методология фармакометаболического подхода в исследовании фармакологических эффектов физиологически активных веществ на модели *Danio rerio*», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, является законченной научно-квалификационной работой, содержащей решение актуальной научной задачи по разработке методических и методологических основ фармакометаболического анализа действия нейротропных веществ с использованием рыб вида *Danio rerio* как модельного организма, имеющей важное научно-практическое значение для экспериментальной фармакологии. По своей актуальности, научной новизне, практической значимости, объему выполненных исследований 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 (14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология), профессор, заслуженный деятель науки, заведующая лабораторией психофармакологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова»

Воронина Татьяна Александровна

Подпись доктора медицинских наук, профессора

Ворониной Татьяны Александровны заверяю

Ученый секретарь ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», кандидат биологических наук

Крайнева Валентина Александровна

«_3_» июня 2022 г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова»

125315, г. Москва, ул. Балтийская, д.8, тел.: 8(499)151-18-81, e-mail: zakusovpharm@mail.ru

