

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу

Гаврилова Ігната Олександровича

на тему **«Експериментальне дослідження психотропних властивостей**

нового нонапептиду – фрагмента нейропептиду Y»,

представлену до офіційного захисту в спеціалізовану вчену раду

ДФ 64.605.041 в Національному фармацевтичному університеті

на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань «Охорона здоров'я»

за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація»

Актуальність теми дисертації. Протягом останнього десятиліття пептиди отримали широке застосування в біотехнологіях та фармації, а дослідження пептидів з медичною метою зараз переживає ренесанс, обумовлений суттєвою економічною привабливістю. Наразі існує понад 60 схвалених пептидних препаратів на ринку США та близько 100 засобів схвалених по всьому світу, і їх кількість, як очікується, суттєво зросте – приблизно 140 пептидних препаратів зараз перебувають у клінічних випробуваннях та понад 500 у доклінічних розробках.

Пептидні препарати мають як сильні, так і слабкі сторони. До переваг таких лікарських засобів належить їх висока ефективність, безпека і переносимість, добре прогнозований метаболізм, висока селективність, стандартизовані протоколи синтезу; також ці препарати потребують меншого часу виходу на ринок. До їх слабких сторін відносять: хімічну та фізичну нестабільність, схильність до гідролізу та окиснення, схильність до агрегації, короткий період напіввиведення та швидка екскреція, низька проникність крізь біологічні мембрани, а також те, що пептиди, зазвичай, не використовуються перорально.

Більшість пептидних препаратів розроблено для лікування метаболічних або імунологічних порушень, відповідно 19 % та 16 % від усієї кількості препаратів. Але існують препарати пептидної природи і для лікування захворювань ЦНС.

Незважаючи на перспективність та широкий перелік переваг у пептидергічних препаратів, необхідна доказова база їх клінічної ефективності. Серед вищезгаданих препаратів, систематичні мультицентрові дослідження проходив лише Цереброділін. Цей препарат рекомендується застосовувати при легкій формі цереброваскулярної деменції та хворобі Альцгеймера, однак за більшістю показань його ефективність не доведена.

Пептидергічні препарати характеризуються тривалим досвідом використання для лікування розладів ЦНС, але доведеної ефективності на людях вони не мають, а більшість робіт містить результати вивчення на лабораторних тваринах. Тому залишається актуальним подальший пошук і доведення ефективності нових пептидних засобів, у тому числі для лікування розладів ЦНС.

Дисертантом сформульована мета дослідження, якій відповідають поставлені завдання, що разом відображають тему дисертації.

Наукова новизна одержаних результатів. У роботі Гаврилова Ігната Олександровича вперше теоретично обґрунтовано та експериментально підтверджено анксиолітичні, ноотропні, антидепресантні та актопротекторні властивості нового нонапептиду, що є модифікованим фрагментом кінцевої ділянки нейропептиду Y. Вперше досліджена взаємодія нонапептиду зі сполуками збуджувального та пригнічувального типу дії та гостра токсичність. Вперше встановлено рецепторні та біохімічні механізми дії нонапептиду NP9, а саме участь бензодіазепінових рецепторів у реалізації ефектів пептиду; здатність підвищувати вміст глутамату та аспартату й знижувати вміст гліцину та ГАМК у гомогенаті головного мозку мишей. Вперше були показані способи виявлення ноотропних, антидепресантних та актопротекторних властивостей нонапептиду формули H-L-Ile-L-Asn-L-Leu-L-Nle-L-Ser-L-Arg-L-Asn-L-Arg-L-Tyr-NH₂ при інтраназальному застосуванні. Новизну цих результатів підтверджено патентом на корисну модель № 148111 від 07.07.2021.

Практичне значення одержаних результатів. У дисертаційній роботі Гаврилова Ігната Олександровича експериментально обґрунтовано доцільність створення нового лікарського засобу на основі оригінального нонапептиду –

модифікованого аналога кінцевої ділянки нейропептиду Y, обґрунтовано новий підхід до корекції тривожних, депресивних і когнітивних розладів шляхом інтраназального застосування зазначеного нонапептиду (патент на винахід № 125920 від 06.07.2022 «Нонапептид з інтраназальним шляхом застосування, що виявляє ноотропну, антидепресантну та актопротекторну дію»), видано інформаційний лист про нововведення у сфері охорони здоров'я «Інноваційні перспективи впровадження у медичну практику нонапептиду з інтраназальним шляхом застосування як сполуки, що має ноотропну, анксиолітичну, антидепресивну та актопротекторну активність» (видано за №40–2021 від 22.12.2020 р.).

Результати фармакологічного дослідження нонапептиду NP9 впроваджено в науково-педагогічний процес споріднених закладів вищої освіти України: кафедри фармакології Буковинського державного медичного університету (протокол № 1 від 25 серпня 2021 р.), кафедри фармакології Вінницького навчального медичного університету ім. М. І. Пирогова (протокол № 1 від 28 серпня 2021 р.), кафедри фармакології та фармакогнозії Одеського національного медичного університету (протокол № 3 від 01 вересня 2021 р.), кафедри фармакології Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця (протокол № 4 від 14 вересня 2021 р.).

Оцінка змісту дисертації. Дисертаційна робота Гаврилова Ігната Олександровича структурована за класичним принципом у відповідності до вимог МОН України. Робота викладена на 179 сторінках машинописного тексту та складається з анотації, списку друкованих праць, вступу, огляду літератури, розділу "Матеріали та методи", 5 розділів власних експериментальних досліджень, розділу, присвяченого аналізу та узагальненню експериментальних даних, загальних висновків, переліку використаних джерел, що містить посилання на 239 джерел (24 – кирилицею, 215 – латиницею) та додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 124 сторінки друкованого тексту. Дисертація ілюстрована 23 таблицями та 4 рисунками.

У вступі обґрунтовано вибір теми дослідження, наведено зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами; викладено мету і завдання

дослідження, наукову новизну і практичну значущість отриманих результатів, описано особистий внесок дисертанта у виконання дисертаційної роботи, перераховано наукові заходи, де проведена апробація результатів роботи, наведено обсяг і структуру дисертації.

Огляд літератури, присвячений сучасному стану фармакології психотропних пептидних препаратів, структуровано на три підрозділи. Спираючись на сучасні, переважно закордонні, джерела літератури, в огляді презентовано вичерпну інформацію щодо сучасного ринку пептидних препаратів для лікування захворювань центральної нервової системи, фізіологічним та фармакологічним властивостям нейропептиду Y (NPY) та теоретично обґрунтовано розробку нового пептидергічного препарату на основі NPY.

У розділі “Матеріали та методи дослідження” автором надано характеристику експериментальних тварин, використаних сполук та лікарських препаратів, експериментальні моделі та методи статистичної обробки даних. Наведено загальний дизайн експерименту та детальний опис експериментальних моделей, що використовував дисертант. Кількість використаних тварин (316 білих рандомбредних мишей обох статей та 120 білих рандомбредних щурів обох статей) при проведенні досліджень була достатньою для одержання обґрунтованих результатів. Усі експериментальні протоколи були схвалені, що засвідчено висновком комісії НФаУ з біоетики (протокол № 3 від 20 березня 2019 р.). Використані методи є адекватними поставленим меті та завданням дисертаційного дослідження та відповідають сучасному науковому рівню.

Третій розділ дисертації присвячений дослідженням обраного для вивчення нонапептиду NP9 на наявність анксиолітичних властивостей. Дослідження психотропних властивостей нонапептиду NP9 проведено на щурах у тестах «Відкрите поле» та «Піднесений хрестоподібний лабіринт». Дослідження відтворюваності анксиолітичного ефекту нонапептиду NP9 автор проводив на мишах у тестах «Відкрите поле» та «Піднесений хрестоподібний лабіринт». Результати тестів «Відкрите поле» та «Піднесений хрестоподібний

лабіринт» були підтвердженні в тесті конфліктної ситуації за Vogel. Нонапептид NP9 в діапазоні доз 0,05-0,1 мг/кг демонструє виразну дозозалежну анксиолітичну активність. Показано, що за виразністю анксиолітичних властивостей на моделі конфліктної ситуації за Vogel пептид NP9 не поступається добре відомому бензодіазепіновому анксиолітику гідазепаму.

У четвертому розділі наведено результати дослідження ноотропних властивостей нонапептиду NP9 у тесті «Умовний рефлекс пасивного уникнення» в мишей, впливу на фази пам'яті в мишей, впливу на когнітивні функції в стресових умовах тесту екстраполяційного вивільнення в щурів, впливу на просторову пам'ять та навчання в щурів, антигіпоксичних властивостей на моделі нормобаричної гіпоксії з гіперкапнією в щурів. За результатами доведено, що нонапептид NP9 є перспективним засобом для подальшого вивчення як препарату для лікування когнітивних порушень та терапії посттравматичного стресового розладу.

П'ятий розділ автор присвятив дослідженню спектру психотропних властивостей нонапептиду NP9 та його взаємодії зі сполуками збуджувального та пригнічувального типу дії. Антидепресантну активність нонапептиду NP9 дисертант вивчав з використанням тесту «Підвішування мишей за хвіст». Поглиблене вивчення антидепресантної активності нонапептиду NP9 досліджено на моделі резерпін-індукованої депресії в щурів. Вплив на фізичну витривалість вивчено в тесті примусового плавання з навантаженням (10 % від маси тварини). Взаємодії нонапептиду зі сполуками пригнічувального типу дії досліджували з використанням етанолу та тіопенталу натрію. Моделі пентилентетразолових та тіосемікарбазидних судом у мишей використано для вивчення взаємодію пептиду NP9 зі сполуками, що збуджують ЦНС. Показано, що в тесті підвішування за хвіст нонапептид NP9 за інтраназального шляху введення в діапазоні доз 0,04-0,4 мг/кг виявляє дозозалежний антидепресантний вплив. Дослідження на моделі резерпін-індукованої депресії у щурів не виявили виразного стимулювального впливу пептиду NP9 навіть після 4-денного курсу введення. У тесті плавання з навантаженням нонапептид NP9 (0,2 мг/кг) значуще у 2,5 разу ($p < 0,01$) підвищував тривалість плавання мишей до

виснаження. Пептид NP9 не продемонстрував впливу на депримуючу дію етанолу, але виявив здатність пришвидшувати входження на 22 % ($p < 0,05$) та збільшувати тривалість тіопенталового наркозу на 67 %. Дослідження взаємодії нонапептиду NP9 з речовинами, що стимулюють ЦНС, не виявили взаємодії з пентилентетразолом та тіосемікарбазидом.

У шостому розділі автор описує вивчення рецепторних та нейрохімічних механізмів психотропної дії нонапептиду NP9. Доведено, що нонапептид NP9 у дозі 0,2 мг/кг інтраназально за одноразового введення виявляє виразну анксиолітичну активність у тесті «Піднесений хрестоподібний лабіринт» у мишей, що усувається флумазенілом (15 мг/кг). Значуще зниження протитривожних маркерів флумазенілом вказує на перешкодження анксиолітичному ефекту пептиду, що, імовірно, вказує на участь бензодіазепінових рецепторів у механізмі дії нонапептиду NP9. При дослідженні вмісту нейроактивних амінокислот у головному мозку на тлі застосування нонапептиду NP9 показано, що NP9 у дозі 0,2 мг/кг після триденного інтраназального введення підвищує вміст глутамату та аспартату, а також знижує вміст гліцину та ГАМК у гомогенаті головного мозку мишей.

Сьомий розділ автор присвятив визначенню ступеня нешкідливості нонапептиду NP9. Доведено, що досліджувана речовина не спричиняє гострих токсичних реакцій за умов однократного внутрішньошлункового та внутрішньоочеревинного шляхів введення. Це дозволяє стверджувати, що NP9 є нешкідливою сполукою.

Розділ “Аналіз та узагальнення результатів” присвячено ґрунтовній систематизації отриманих результатів. Дисертант продемонстрував глибокі знання в аспектах патогенезу та лікування психічних розладів та коморбідних захворювань, а експериментально обґрунтував новий підхід до їх корекції. Автор представляє загальну логіку всього дослідження та чітко окреслює зв'язки між отриманими в різних експериментах результатами.

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Дисертаційна робота Гаврилова Ігната Олександровича виконана на сучасному науковому рівні з

використанням достатнього обсягу даних експериментальних досліджень. Використані у роботі методи є адекватними поставленим завданням. Кількість проведених дослідів є достатньою для достовірної аргументації основних положень дисертаційної роботи. Висновки аргументовані, логічно витікають із наданих матеріалів, містять вагомі елементи новизни та мають науково-практичне значення.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях.

Основні положення дисертаційної роботи викладені у 19 роботах, з яких 8 статей в наукових спеціалізованих виданнях (з них 6 статей у фахових журналах, рекомендованих МОН України, та 2 – у профільних закордонних журналах, що реферуються у базі Scopus), 1 патент на винахід, 1 патент на корисну модель, 1 інформаційний лист та 8 тез доповідей.

Зауваження щодо змісту дисертації. Не дивлячись на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи Гаврилова Ігната Олександровича, у процесі ознайомлення з нею виникло кілька дискусійних питань та зауважень.

Зауваження:

1. У дисертації присутні технічні недоліки оформлення роботи (технічні помилки, розриви при переносі значень й одиниць виміру тощо), по тексту роботи зустрічаються окремі невдалі стилістичні вирази.

Втім, зазначене зауваження не є суттєвим та не знижує наукової та практичної цінності представленої дисертації.

При ознайомленні з дисертаційною роботою виникли наступні запитання, які доцільно обговорити в ході наукової дискусії:

1. Чим Ви можете пояснити, що за доведеного потужного впливу нонапептиду NP9 на вміст нейротрансмітерних амінокислот (особливо глутамату та ГАМК), Ви не спостерігали віддзеркалення цієї дії на ГАМК-негативних моделях судом.

2. Як Ви можете прокоментувати питання безпечності майбутнього застосування нонапептиду NP9 у клінічних умовах з урахуванням саме такого характеру впливу на аміноациддергічні процеси, який доведено Вами в експерименті?

Відповідність дисертації вимогам, що висуваються до дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії. Дисертація Гаврилова Ігната Олександровича за темою «Експериментальне дослідження психотропних властивостей нового нонапептиду – фрагмента нейропептиду Y» є завершеним науковим дослідженням, в якому отримані нові науково обґрунтовані результати. Здобутки дисертаційного дослідження є вагомим внеском у розв'язання актуальної наукової проблеми обґрунтування нових методів терапії когнітивних, тривожних і депресивних розладів шляхом застосування нонапептиду NP9 з інтраназальним шляхом введення. У дисертаційній роботі не виявлено академічного плагіату.

З усього вищевикладеного можна зробити **висновок** про те, що дисертаційна робота «Експериментальне дослідження психотропних властивостей нового нонапептиду – фрагмента нейропептиду Y» є закінченою науковою працею, в якій досягнута основна мета та вирішені задачі дослідження, і за актуальністю, новизною, методичними підходами, науковою й практичною значимістю отриманих результатів відповідає вимогам Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженого постановою КМУ від 12 січня 2022 року № 44, а її автор, Гаврилов Ігнат Олександрович, заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація».

Рецензент:

доцент закладу вищої освіти
кафедри медичної хімії,
доктор фармацевтичних наук, доцент



Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ

Підпис доцента ЗВО Подольського ІМ підтверджую:
Провідний фахівець
з питань кадрової роботи НФаУ



Віра ДВЕРНИЦЬКА

21.10.2022 р.