

ОТЗЫВ

члена диссертационного совета на диссертацию Жукова Ильи Сергеевича на тему: «Оценка физиологической роли следовых аминов и их рецепторов в гематологических, биохимических и поведенческих процессах на генетически изменённых линиях животных с нокаутом генов TAAR», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Представленная диссертационная работа посвящена изучению характеристик гематологических, биохимических, поведенческих и нейрохимических особенностей фенотипа грызунов с нокаутом генов TAAR и оценке данных моделей в качестве потенциальной мишени для воздействия фармакологических средств. В качестве животных-биомоделей использованы мыши с нокаутом гена TAAR1, TAAR5 и крысы с нокаутом гена TAAR9.

В диссертационном исследовании использован достаточный спектр современных поведенческих (тесты «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт», исследование половой мотивации у мышей, микроструктура груминга, оценка агрессивного поведения), биохимических и иммунологических методов исследования. С помощью метода хроматографии оценено содержание моноаминов в различных морфогистологических структурах мозга (обонятельный бугорок, гиппокамп, стриатум и кора больших полушарий). Фармакологические аспекты работы представлены результатами действия *in vivo* препаратов йохимбин, бусерилин и агонистов TAAR1 в виде фармакологических субстанций PT-141, LK01490, LK00281 и LK0386 на генетически изменённых линиях грызунов с нокаутом гена TAAR.

Использование фенотипа грызунов с нокаутом генов TAAR в качестве биологической модели, перечень изученных показателей свидетельствует о достаточном понимании диссертантом исследуемых проблем по выявлению новых черт фенотипа и позволяет получить объективные доказательства выдвигаемых положений и сформулировать обоснованные заключения, актуальные для биологии и фармакологии.

Большой личный вклад соискателя диссертационной работы включает формулировку целей и задач исследования, оценку гематологических, гормональных и биохимических показателей, поведенческих и нейрохимических параметров животных с генетическим нокаутом подтипов гена TAAR1, TAAR5, TAAR9, тем самым открывая перспективы дальнейшего изучения нейродегенеративных заболеваний и возможностей их фармакотерапии.

Научная новизна представленной работы заключается в том, что впервые было исследовано влияние нокаута гена TAAR на гематологические и биохимические параметры грызунов и выявлена потенциальная нейробиологическая взаимосвязь следовых аминов и их рецепторов с агрессивным поведением. В частности, доминантно-агрессивное поведение наблюдалось у мышей с нокаутом гена TAAR1 по сравнению с контрольной группой животных (WT). Благодаря исследованию к перечню основных модуляторов агрессии (дофамин и серотонин) можно причислить следовые амины, обеспечивающие еще один потенциальный нейробиологический сигнальный путь

агрессии, клинически значимый для широкого спектра психических расстройств. Впервые был обнаружен сниженный уровень холестерина у крыс с нокаутом гена TAAR9 и повышение хрупкости эритроцитов у мышей с нокаутом гена TAAR5.

Оценка влияния нокаута гена TAAR1 на процессы эритропоэза выявила минимальные отличия средней корпускулярной концентрации гемоглобина и уровней ретикулоцитов в группах TAAR1-KO и контроля (WT). Полученные результаты в ходе оценки лейкоцитов и других рутинных гематологических параметров позволяют предположить, что серьезных нарушений в работе иммунной системы у мышей из обеих групп не наблюдается и все параметры лейкоцитарной формулы находятся в пределах допустимых значений. Доказано, что отсутствие гена TAAR1 не влияет на регуляцию гормонов щитовидной железы и уровни тестостерона, что исключает влияние гормональных эффектов на агрессивное и половое поведение. Оценка биохимических параметров мышей с нокаутом гена TAAR1 выявила значительное снижение в уровнях креатинкиназы у мышей с нокаутом гена TAAR1, что указывает на изменения в энергетическом обмене экспериментальных животных и процессах мышечного истощения.

Представленные результаты исследования поведения в приподнятом крестообразном лабиринте демонстрируют минимальные изменения между группами TAAR1-KO и группой контроля (WT). Однако анализ микроструктуры груминга мышей TAAR1-KO указывает на более организованную и менее хаотичную структуру по сравнению с контрольной группой WT. Существенного влияния нокаута гена TAAR1 на половую мотивацию нет, о чем свидетельствует отсутствие значимых различий в количестве посещений «зоны самки» для экспериментальных и контрольных животных.

Серии поведенческих тестов, осуществленных методом резидент-интродер и доминирования в трубе, демонстрируют более агрессивное поведение в ряде параметров резидента TAAR1-KO, в то время как WT в случае конфликта реализуют только защитные стратегии. Нокаут гена TAAR1 оказывает статистически значимые изменения уровней моноаминов только в коре больших полушарий гибридных животных. В ходе изучения влияния агонистов TAAR1 (LK01490, LK00281 и LK0386) на толерантность к глюкозе отмечена задержка падения уровня глюкозы, что, возможно, определяет еще один вектор дальнейших исследований изучаемых веществ в области эндокринологии.

Нокаут гена TAAR5 оказал минимальное влияние на большинство гематологических параметров, однако была выявлена повышенная хрупкость эритроцитов в крови мышей TAAR5-KO. Этот факт позволяет целенаправленно контролировать гематологические осложнения в случае использования рецептора TAAR5 в качестве фармакологической мишени, оказывающей влияние на процессы нейrogenеза, как при ряде геронтологических нейродегенеративных заболеваний, так и патологиях перинатального возраста.

Результаты работы на двух линиях крыс TAAR9-KO, независимо полученных путем редактирования генов, опосредованного CRISPR/Cas9, в зиготах, позволил оценить ряд гематологических параметров и выявить отсутствие значимых изменений как показателей красной, так и белой крови. Чрезвычайно интересным и важным

представляется факт влияния нокаута гена TAAR9 на липидный обмен в виде снижения уровня общего холестерина и фракции ЛПНП, что открывает возможности не только углубления знаний о патологической физиологии наиболее распространенных сердечно-сосудистых заболеваний, но и поиска новых фармакологических мишеней.

Научные результаты выполненных исследований изложены в 5 статьях в международных журналах, индексируемых системами WoS и/или Scopus. Результаты, представленные в диссертационной работе, доложены на российских и международных конференциях.

В ходе изучения диссертационной работы Жукова И.С. у меня возникли следующие вопросы и замечания:

1. В ходе исследования биохимических параметров мышей с нокаутом гена TAAR1 были выявлены значительное снижение в уровнях креатинкиназы у мышей с нокаутом гена TAAR1, что, согласно высказыванию автора, указывает на изменения в энергетическом обмене экспериментальных животных. Почему автор ограничился изучением только одного параметра, тогда как метод обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии, использованный в работе, мог быть применен для определения целого ряда адениновых нуклеотидов?

2. В диссертационном исследовании имеется указание на использование рецептора TAAR5 в качестве фармакологической мишени, оказывающей влияние на процессы нейрогенеза. Имеются ли собственные результаты автора, доказывающие подобный эффект?

Вышеуказанное замечание и вопросы не умаляют научной и практической ценности представленной диссертационной работы, поэтому не влияют на ее общую положительную оценку. Фундаментальная и практическая значимость диссертационной работы, выносимых на защиту положений и сделанных выводов не вызывает сомнений.

Заключение:

Диссертация Жукова Ильи Сергеевича на тему: «Оценка физиологической роли следовых аминов и их рецепторов в гематологических, биохимических и поведенческих процессах на генетически изменённых линиях животных с нокаутом генов TAAR» соответствует основным требованиям, установленным Приказом от 19.11.2021 № 11181/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете», соискатель Жуков Илья Сергеевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология. Нарушения пунктов 9 и 11 указанного Порядка в диссертации не установлены.

Член диссертационного совета

доктор медицинских наук, старший преподаватель кафедры фармакологии

ВМА им. С.М. Кирова,



Воробьева Виктория Владимировна