

УТВЕРЖДАЮ

Ректор
федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Ярославский
государственный медицинский
университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации
(ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России),
доктор медицинских наук,
профессор, академик РАН

А.Л. Хохлов

« 24 » * октября 20 24 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации о научно-практической значимости диссертационной работы Ананьевой Пелагеи Дмитриевны на тему «Оценка принадлежности этилметилгидроксипиридина сукцината к субстратам и модуляторам активности OATP1B1 *in vitro*», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки).

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Ананьевой Пелагеи Дмитриевны посвящена актуальной проблеме современной фармакологии – изучению лекарственных взаимодействий на уровне клинически значимых белков-транспортеров и прогнозированию нежелательных лекарственных реакций. Нежелательные лекарственные реакции остаются одной из важнейших проблем современной фармакотерапии во всем мире, часть из них относится к тяжелым, в том числе с фатальными последствиями. Частой причиной нежелательных лекарственных реакций становятся фармакокинетические лекарственные взаимодействия, которые могут развиваться, в частности, на уровне белков-транспортеров.

Полипептид, транспортирующий органические анионы, 1B1 (OATP1B1) локализован на базолатеральной мембране гепатоцитов и отвечает за проникновение веществ-субстратов в клетки, где происходит их биотрансформация. OATP1B1 обладает широкой субстратной специфичностью (отвечает за транспорт многих лекарственных средств, в том числе, статинов, ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента, блокаторов рецепторов ангиотензина II, сердечных гликозидов, ряда антибактериальных и противовирусных лекарственных средств) и имеет высокий потенциал развития лекарственных взаимодействий, что позволяет отнести данный транспортер к числу клинически значимых.

Принимая во внимание существенную клиническую роль OATP1B1 в развитии лекарственных взаимодействий, ведущие мировые регуляторные органы, такие как ICH (International Council For Harmonisation Of Technical Requirements For Pharmaceuticals For Human Use), FDA (U.S. Food and Drug Administration), EMA (European Medicines Agency) рекомендуют тестировать все новые лекарственные препараты на принадлежность к субстратам и ингибиторам данного белка-транспортера с целью повышения безопасности фармакотерапии.

Оптимальной тест-системой для проведения данных исследований *in vitro*, являются рекомбинантные клеточные линии, селективно гиперэкспрессирующие тот или иной транспортер. В России подобные тест-системы отсутствуют, что ограничивает изучение фармакокинетических лекарственных взаимодействий.

Этилметилгидроксипиридина сукцинат (ЭМГПС) – оригинальный отечественный препарат с мультитаргетным и полимодальным действием. ЭМГПС часто назначается одновременно с другими лекарственными препаратами, что требует учета потенциальных лекарственных взаимодействий. Для повышения безопасности проводимой комбинированной терапии и прогнозирования развития фармакокинетических лекарственных взаимодействий необходима точная идентификация белков-транспортеров, принимающих участие в фармакокинетике препарата.

Таким образом, оценка принадлежности ЭМГПС к субстратам и модуляторам белка-транспортера OATP1B1 представляется важной и актуальной задачей фармакологии, решению которой посвящена настоящая работа.

Научная новизна исследования и полученных результатов

В рамках проведенного исследования была разработана первая в России рекомбинантная линия клеток, гиперэкспрессирующая OATP1B1. В ходе исследования была налажена и апробирована методика тестирования лекарственных веществ на принадлежность к субстратам, ингибиторам и

индукторам OATP1B1 с помощью созданной рекомбинантной линии клеток (HEK293-OATP1B1) и клеток гепатоцеллюлярной карциномы (HepG2). Автором были разработаны и валидированы методики количественного определения этилметилгидроксипиридина и аторвастатина в образцах лизатов клеток методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandemным масс-спектрометрическим детектированием. С помощью разработанных методик протестирована принадлежность этилметилгидроксипиридина сукцината к субстратам и ингибиторам OATP1B1. В ходе исследования были получены новые данные о влиянии этилметилгидроксипиридина сукцината на экспрессию гена *SLCO1B1* и количество белка OATP1B1 в клетках линии HepG2.

Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов

Выводы и практические рекомендации, сформулированные автором диссертационной работы, имеют высокую значимость для науки и практики.

Разработанная в ходе выполнения диссертации методика тестирования лекарственных веществ на принадлежность к субстратам, ингибиторам и индукторам OATP1B1 позволяет прогнозировать развитие фармакокинетических лекарственных взаимодействий на уровне белка-транспортера OATP1B1.

Разработанные автором методики количественного определения этилметилгидроксипиридина и аторвастатина в образцах лизатов клеток методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandemным масс-спектрометрическим детектированием являются высокочувствительными, что позволяет использовать их в биоаналитических исследованиях.

Результаты проведенных экспериментов показывают, что этилметилгидроксипиридина сукцинат может безопасно комбинироваться в клинической практике с субстратами и ингибиторами OATP1B1 и не вступает с ними в фармакокинетические лекарственные взаимодействия.

В ходе работ впервые было установлено, что этилметилгидроксипиридина сукцинат повышает экспрессию гена *SLCO1B1* и не влияет на относительное количество OATP1B1 в образцах лизатов клеток.

Результаты диссертационной работы послужили основой для разработки практических рекомендаций разработчикам лекарственных средств и практикующим врачам-клиническим фармакологам.

Внедрение результатов исследования в практику

Основные результаты диссертационной работы успешно внедрены и используются в учебном процессе при обучении студентов и клинических ординаторов на кафедре фармакологии института фармации и медицинской химии

ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России (Протокол №1 от 28.08.23), в работе лаборатории клеточных технологий НЦИЛС ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет Минздрава России» (Акт внедрения от 17.11.2023), в работе ЦНИЛ ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени И.П. Павлова Минздрава России» (Акт внедрения от 01.09.2023).

Личный вклад автора

Автор диссертационной работы самостоятельно выбрал тему исследования, определил цель и задачи работы, а также актуальность проводимого исследования. Автор принимал непосредственное участие в разработке методологии и определении необходимых методов исследования. Автором лично были проведены эксперименты *in vitro*, выполнены молекулярно-генетические (ПЦР-анализ), масс-спектрометрические (ВЭЖХ-МС/МС) исследования, а также исследования методом вестерн блот. Автор самостоятельно провел обработку и интерпретацию полученных в ходе исследования результатов, подготовил текст диссертации, опубликовал научные работы по результатам диссертационного исследования, а также внедрил их в образовательный и рабочий процесс.

Оценка структуры и содержания работы, ее завершенности

Диссертационная работа структурирована по классическому типу и включает в себя следующие разделы: введение, глава 1 – обзор литературы, глава 2 – материалы и методы исследования, глава 3 – результаты исследования, обсуждение полученных результатов, заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений, список литературы.

Диссертация изложена на 119 страницах машинописного текста, иллюстрирована 21 рисунком и 15 таблицами. Список литературы представлен 178 источниками, включая 57 источников отечественной и 121 источник зарубежной литературы. Работа имеет внутреннее единство и содержит совокупность полученных автором результатов исследования.

Во введении автором обосновывается актуальность исследования, определяются цель и задачи, доказывается научная новизна и практическая значимость работы, формулируются положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация результатов исследования. Цель и задачи сформулированы четко и полностью соответствуют теме диссертационной работы. Обзор литературных источников, приведенный в первой главе, в полной мере освещает изучаемую проблему, изложение текста последовательное и логичное. В материалах и методах исследования,

описанных во второй главе, подробно представлены этапы исследования и программа. Главы, освещающие результаты исследования и их обсуждения содержат подробную информацию о результатах проводимого исследования, хорошо иллюстрированы таблицами и рисунками, что улучшает восприятие текста и результатов. Выводы логично вытекают из поставленных задач, положений, выносимых на защиту, и имеют важное научно-практическое значение. Практические рекомендации сформулированы конкретно и адресно. Все задачи, поставленные автором, выполнены. Цель исследования достигнута.

Достоверность и обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций

Высокая степень достоверности полученных результатов обусловлена достаточным объемом экспериментальных данных, полученных *in vitro* с использованием адекватных и современных методов исследований (генной инженерии, полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, вестерн блот, высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием) с последующей систематизацией и статистической обработкой. Результаты исследования обработаны с помощью адекватных и корректных методик с использованием специализированного программного обеспечения – «Statsoft Statistica 13.0» (США) и GraphPad Prism 8.1.2. (GraphPad Software, США).

Подтверждение опубликованных основных результатов диссертации

По теме исследования опубликовано 6 печатных работ, отражающих основные результаты диссертации, в т.ч. 5 статей, в журналах, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для опубликования основных научных результатов диссертаций, из которых 4 статьи размещены в журналах, включенных в международные базы данных SCOPUS и Web of Science.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Автореферат полностью отражает содержание работы, составлен в соответствии с требованиями ГОСТ Р 7.0.11-2011 и соответствует специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, основным положениям и требованиям ВАК России.

Диссертационная работа Ананьевой Пелагеи Дмитриевны соответствует паспорту специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки) и соответствующим направлениям исследований: п. 6. Изучение фармакодинамики, фармакокинетики и метаболизма лекарственных средств. Установление связей между дозами, концентрациями и

эффективностью лекарственных средств. Экстраполяция полученных данных с биологических моделей на человека; п. 9. Изучение взаимодействия лекарственных средств, разработка наиболее рациональных комбинаций при проведении современной фармакотерапии.

Вопросы и замечания по диссертации

Принципиальных замечаний по диссертации нет, однако по тексту встречаются орфографические, стилистические и пунктуационные ошибки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

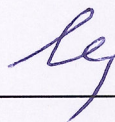
Диссертационная работа Ананьевой Пелагеи Дмитриевны на тему «Оценка принадлежности этилметилгидроксипиридина сукцината к субстратам и модуляторам активности OATP1B1 *in vitro*», выполненная в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, под руководством доктора медицинских наук, доцента, профессора кафедры фармакологии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России Шулькина Алексея Владимировича, представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки), является законченной научно-квалификационной работой, которая посвящена решению важной и актуальной задачей современной фармакологии – оценке принадлежности современного отечественного препарата этилметилгидроксипиридина сукцината к субстратам и модуляторам функциональной активности клинически значимого белка-транспортера OATP1B1. Внедрение результатов исследования в процесс разработки новых лекарственных препаратов и в работу врачей-клинических фармакологов позволит снизить риск развития нежелательных лекарственных реакций, связанных с лекарственными взаимодействиями на уровне белка-транспортера OATP1B1, что существенно повысит безопасность проводимой фармакотерапии, имеющая существенное практическое значение для клинической фармакологии.

Работа соответствует п.9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 №842 (в ред. от 25.01.2024 г.), а её автор, Ананьева Пелагея Дмитриевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки).

Настоящий отзыв ведущей организации обсужден и утвержден на заседании кафедры фармакогнозии и фармацевтической технологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Отзыв составил:

доктор медицинских наук,
доцент, заведующий кафедрой фармакогнозии
и фармацевтической технологии
Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Ярославский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,



А.В. Сидоров

Подпись д.м.н., доцента А.В. Сидорова заверяю:

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Ярославский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
доктор медицинских наук, профессор



И.М. Мельникова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Ярославский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес: 150000, Российская федерация, г. Ярославль, ул. Революционная, д.5

Тел.: +7(485)230-5641

e-mail: rector@ysmu.ru

Web-сайт: <https://ysmu.ru/>

«24» октября

2024 г.