

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 21.3.054.05

на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации по диссертационной работе 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)

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от 20 ноября 2024г., № 13

О присуждении Ананьевой Пелагеи Дмитриевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата медицинских наук.

Диссертация на тему: **«Оценка принадлежности этилметилгидроксипиридина сукцината к субстратам и модуляторам активности OATP1B1 *in vitro*»** по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки) принята к защите 18 сентября 2024 г., протокол № 13-Б диссертационным советом 21.3.054.05 на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125993, Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, Приказ Министерства науки и высшего образования Российской Федерации о создании совета № 485/нк от 22 марта 2023 г.

Соискатель Ананьева Пелагея Дмитриевна, 1996 года рождения, в 2020 году окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России) по специальности «Лечебное дело» с присвоением квалификации врач-

лечебник. С 2020 по 2022 год обучалась в ординатуре по специальности «Терапия». Имеет повышение квалификации «Правила организации и проведения доклинических исследований лекарственных средств - GLP» на базе ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (2021); «Клиническая фармакогенетика антитромботических препаратов» на базе ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (2024). Обладатель премии губернатора Рязанской области «Молодой учёный-2022». Обладатель гранта «УМНИК» (2021 год, договор №17194ГУ/2021).

В период выполнения диссертационного исследования и по настоящее время работает на кафедре фармакологии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России в должности ассистента.

Диссертация выполнена на кафедре фармакологии «Рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

- **Щулькин Алексей Владимирович**, доктор медицинских наук (3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология), доцент, профессор кафедры фармакологии «Рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Официальные оппоненты:

- **Воронина Татьяна Александровна**, доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела нейрпсихофармакологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»

- **Журавлева Марина Владимировна**, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский

государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова
Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский
Университет);

дали положительные отзывы о диссертации.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования «Ярославский
государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации в своем положительном заключении, составленном
доктором медицинских наук, доцентом, заведующим кафедрой
фармакогнозии и фармацевтической технологии Федерального
государственного бюджетного образовательного учреждения высшего
образования «Ярославский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Александром
Вячеславовичем Сидоровым и утвержденным ректором федерального
государственного бюджетного образовательного учреждения высшего
образования «Ярославский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктором
медицинских наук, профессором, академиком РАН Александром
Леонидовичем Хохловым, указала, что диссертация Ананьевой П.Д. на тему:
«Оценка принадлежности этилметилгидроксипиридина сукцината к
субстратам и модуляторам активности OATP1B1 *in vitro*» является
законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится
решение важной научной задачи, а именно оценка принадлежности
современного отечественного препарата этилметилгидроксипиридина
сукцината к субстратам и модуляторам функциональной активности
клинически значимого белка-транспортера OATP1B1, имеющей
существенное значение для современной фармакологии и медицины.

Диссертация соответствует требованиям пункта 9 «Положения о
порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением
Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 №842 (в редакции от

25.01.2024), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Ананьева Пелагея Дмитриевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки).

Диссертационное исследование Ананьевой П.Д., целью которого явилась оценка принадлежности этилметилгидрокиспиридина сукцината к субстратам и модуляторам активности OATP1B1 *in vitro*, является актуальным и своевременным. Научные положения, выводы и практические рекомендации, полученные в результате исследования, адекватны и соответствуют поставленной цели и задачам работы, доказаны и статистически достоверны, что свидетельствует о высокой степени научной обоснованности.

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 в журналах, включенных в международные базы данных SCOPUS и Web of Science – 4 статьи. Все опубликованные работы посвящены изучению межлекарственных взаимодействий на уровне белка-транспортера OATP1B1 и влияния различных препаратов на его функциональную активность. Таким образом, опубликованные работы полностью соответствуют тематике проведенного исследования.

Наиболее значимыми публикациями, отражающими результаты диссертационного исследования, являются:

1. **Ерохина, П.Д.** Разработка и валидация методики количественного определения аторвастатина в клетках линии HepG2 методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием / **П.Д. Ерохина, П.Ю. Мыльников, С.О. Ганина** [и др.] – Текст: непосредственный // Российский медико-биологический вестник

имени академика И.П. Павлова. – 2022. – Т. 30, № 2. – С. 149-158. – DOI 10.17816/PAVLOVJ100986. – EDN FFDFLP.

2. **Ерохина, П.Д.** Линия клеток HepG2 как модель для изучения проникновения статинов в гепатоциты / **П.Д. Ерохина**, А.А. Слепнев, П.Ю. Мыльников [и др.] – Текст: непосредственный // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2022. – № 10(206). – С. 70-76. – DOI 10.31146/1682-8658-esg-206-10-70-76. – EDN MPLHQZ.

3. **Ерохина, П.Д.** Создание клеточной линии, селективно продуцирующей функционально активный транспортёр OATP1B1 / М.С. Котлярова, А.В. Щулькин, **П.Д. Ерохина** [и др.] – Текст: непосредственный // Биохимия. – 2023. – Т. 88, № 9. – С. 1536-1544. – DOI 10.31857/S0320972523090063. – EDN WTOBBY.

4. **Ерохина, П.Д.** Влияние оригинальных отечественных нейротропных препаратов на полипептиды, транспортирующие органические анионы OATP1B1 и OATP1B3 / **П.Д. Ерохина**, Ю. В. Абаленихина, П. Ю. Мыльников [и др.] – Текст: непосредственный // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2023. – Т. 176, № 8. – С. 198-203. – DOI 10.47056/0365-9615-2023-176-8-198-203. – EDN CVOVNV.

5. **Erokhina, P.D.** Ethylmethylhydroxypyridine Succinate Is an Inhibitor but Not a Substrate of ABCB1 and SLCO1B1 / A.V. Shchulkin, **P.D. Erokhina**, A.V. Goncharenko [et al.]. – Text: visual // Pharmaceuticals (Basel). – 2023. – Vol. 16, N 11. – P. 1529–1543. – DOI 10.3390/ph16111529.

В опубликованных работах приводятся основные результаты научного исследования. Недостоверных сведений об опубликованных работах в диссертации не содержится.

На автореферат поступили отзывы:

1. Отзыв от д.м.н., профессора Евсеева Андрея Викторовича, заведующего кафедрой нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Отзыв положительный, замечаний не содержит;

2. Отзыв от д.м.н., профессора Решетько Ольги Вилоровны, заведующей кафедрой фармакологии ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России.

Отзыв положительный, замечаний не содержит;

3. Отзыв от д.м.н. Федотчевой Татьяны Александровны, главного научного сотрудника научно-исследовательской лаборатории молекулярной фармакологии НИИ трансляционной медицины ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (Пироговский Университет).

Отзыв положительный, замечаний не содержит;

Согласно отзывам, диссертация соответствует требованиям, предъявляемым к работам на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, замечаний к содержанию и оформлению автореферата, отражающего результаты диссертационного исследования, нет. Критические замечания в отзывах также отсутствуют.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что официальные оппоненты являются компетентными учеными в соответствующей отрасли медицинской науки и имеют публикации в сфере клинической фармакологии. Выбор ведущей организации обусловлен наличием в ее составе профильных специалистов, компетентных ученых, имеющих соответствующие публикации в сфере клинической фармакологии, и способных определить научную и практическую ценность диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- **разработана** методика оценки принадлежности лекарственных веществ к субстратам и модуляторам активности OATP1B1, позволяющая оценить межлекарственные взаимодействия на уровне данного транспортера и повысить безопасность проводимой фармакотерапии;
- **предложены** методики количественного определения аторвастатина и этилметилгидроксипиридина в лизате клеток с помощью ВЭЖХ-МС/МС;

- **доказано**, что оригинальный отечественный антиоксидант и антигипоксант этилметилгидроксипиридина сукцинат может безопасно назначаться в составе комбинированной терапии с ингибиторами функциональной активности OATP1B1, так как не является субстратом транспортера, и ингибирование OATP1B1 под действием этилметилгидроксипиридина сукцината не является клинически значимым.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- **доказано**, что ингибирующая активность этилметилгидроксипиридина сукцината обусловлена наличием оксипиридина в составе его молекулы;
- **применительно к проблематике диссертации** с получением обладающих новизной результатов была использована разработанная клеточная линия НЕК293-OATP1B1 для оценки принадлежности лекарственных препаратов к субстратам, индукторам и ингибиторам OATP1B1;
- **раскрыты** механизмы ингибирующего действия этилметилгидроксипиридина сукцината в отношении OATP1B1;
- **изложено** обоснование отсутствия клинической значимости ингибирующего эффекта этилметилгидроксипиридина сукцината в отношении OATP1B1 и, соответственно, необходимости проведения дополнительных клинических исследований;
- **изучено** влияние этилметилгидроксипиридина сукцината на экспрессию гена *SLCO1B1* и количество белка OATP1B1 в биологических образцах;
- **проведена** модернизация подходов к оценке риска развития фармакокинетических межлекарственных взаимодействий на уровне OATP1B1 путем разработки и внедрения системы практических рекомендаций, содержащих четкие, объективные и информативные критерии.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

- **разработана** тест-система для оценки принадлежности лекарственных препаратов к субстратам и модуляторам активности OATP1B1 - рекомбинантная линия клеток НЕК293-OATP1B1, на региональном уровне

внедрена методика оценки принадлежности лекарственных препаратов к субстратам и модуляторам активности OATP1B1;

- **определены** подходы к оценке клинической значимости результатов о влиянии тестируемого препарата на функциональную активность OATP1B1, полученных в ходе экспериментов *in vitro*;

- **создана** система тестирования лекарственных препаратов на принадлежность к субстратам и модуляторам активности OATP1B1 *in vitro*;

- **представлены** практические рекомендации для разработчиков новых лекарственных средств и практикующих врачей-клинических фармакологов.

Положения данного исследования нашли практическое применение в образовательном 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, в работе лаборатории клеточных технологий НЦИЛС ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет Минздрава России», в работе ЦНИЛ ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени И.П. Павлова Минздрава России».

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

– **использован** достаточный объем экспериментальных данных, полученных на клетках *in vitro* с использованием адекватных и современных методов исследований (генной инженерии, микроскопии, полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, вестерн-блот, высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandemным масс-спектрометрическим детектированием) с последующей систематизацией и статистической обработкой.

- **результаты** получены на современном оборудовании;

- **теория** построена на международных рекомендациях по прогнозированию развития межлекарственных взаимодействий, согласуется с опубликованными в ведущих научных журналах данными;

- **идея** разработки методики тестирования лекарственных препаратов на принадлежность к субстратам и модуляторам активности OATP1B1 *in vitro* базируется на результатах изучения международного и отечественного опыта по данному вопросу и собственных исследованиях, проведенных на базе государственных медицинских организаций;
- **использованы** современные корректные методы статистической обработки, анализа и интерпретации полученных результатов: дисперсионный анализа (ANOVA) с последующим применением критерия Даннетта и непарного t-критерия Стьюдента, а также расчёт константы Михаэлиса и максимальной скорости поглощения с использованием уравнения конкурентного ингибирования.

Личный вклад соискателя Автору принадлежит основная роль на всех этапах исследования: автор самостоятельно выбрал тему диссертационного исследования, изучил литературу по тематике исследования, подготовил обзор литературы по направлению темы диссертационной работы, принимал непосредственное участие в разработке методологии и определении необходимых методов исследования, лично провел эксперименты *in vitro*, выполнил 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 и внедрил их в образовательный и рабочий процесс, подготовил текст диссертации, опубликовал научные работы по результатам диссертационного исследования, докладывал лично на конференциях различного уровня.

Диссертация соответствует критерию внутреннего единства, что обусловлено концептуальностью и отсутствием методологических противоречий. В диссертации решена актуальная научная задача по оценке принадлежности оригинального российского препарата этилметилгидроксипиридина сукцината к субстратам и модуляторам активности белка-транспортера OATP1B1. В ходе проведенного

10