

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по науке и инновациям
ФГАОУ ВО «Белгородский
государственный
исследовательский
университет»,

Репников Николай Иванович

«11» М

2022 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической ценности диссертационной работы Мыльникова Павла Юрьевича на тему: «Влияние этилметилгидроксиридина сукцината на функционирование гликопротеина-Р в гематоэнцефалическом барьере в норме и при острой гипоксической гипобарической гипоксии», представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.6 – фармакология, клиническая фармакология.

Актуальность темы диссертационного исследования

Заболевания, сопровождающиеся развитием гипоксии, в настоящее время занимают значительную долю от общей заболеваемости населения. Одной из основных проблем их фармакотерапии является необходимость максимально полно нивелировать последствия данного патологического процесса с целью предотвратить возможную инвалидизацию и последующее снижение качества жизни пациентов, развивающиеся как итог необратимых изменений в органах и тканях.

Функционирование гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) – защитный механизм, обеспечивающий избирательный транспорт веществ в ткань мозга. Гликопротеин-Р – белок транспортер, локализованный в ГЭБ, который препятствует проникновению в ткань мозга эндогенных и экзогенных

веществ, являющихся его субстратами. Изменение его функциональной активности при гипоксии, или под действием лекарственных веществ может существенным образом повлиять на фармакокинетику препаратов, их проникновение в ткань мозга и фармакологический эффект. Поэтому актуальным является изучение функциональной активности гликопротеина-Р локально в ГЭБ, с целью оптимизации фармакокинетики и как следствие, фармакотерапии заболеваний центральной нервной системы. Актуальным также является изучение новых механизмов действия известных лекарственных средств, которые могут применяться в период острой гипоксии. Активно исследуются транскрипционные факторы HIF-1 α и Nrf2, которые оказывают разнообразное регуляторное действие на функции и адаптацию органов и тканей в условиях гипоксии.

Учитывая вышеизложенное, диссертационная работа Мыльникова Павла Юрьевича посвящена актуальной проблеме – изучению влияния антиоксиданта и антигипоксанта этилметилгидроксиридина сукцината на функционирование гликопротеина-Р в гематоэнцефалическом барьере в условиях нормы и острой гипоксической гипобарической гипоксии и выявление механизмов действия препарата, связанных с транскрипционными факторами HIF-1 α и Nrf2.

Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В диссертационной работе Мыльникова П.Ю. впервые в условиях *in vitro* продемонстрирована способность этилметилгидроксиридина сукцината напрямую ингибировать функциональную активность гликопротеина-Р.

Автором разработана оригинальная методика определения активности гликопротеина-Р в гематоэнцефалическом барьере в условиях *in vivo*; выявлено, что исследуемый лекарственный препарат ингибирует активность гликопротеина-Р локально в гематоэнцефалическом барьере.

Подтверждено повышение функциональной активности гликопротеина-Р в гематоэнцефалическом барьере при гипоксии и нормализация данного показателя при превентивном введении этилметилгидроксиридина сукцината.

Показано отсутствие воздействия исследуемого препарата на относительное количество HIF-1 α и Nrf2 в головном мозге при однократном и длительном введении, повышение их количества в условиях гипоксии и более сильное увеличение уровня Nrf2 в условиях сочетанного воздействия гипоксии и этилметилгидроксиридина сукцината.

Научно-практическая значимость полученных результатов

Полученные Мыльниковым П.Ю. результаты позволяют при изучении фармакокинетики лекарственных средств исследовать их влияние на функциональную активность гликопротеина-Р в ГЭБ, что может дополнительно обосновать эффективность и безопасность лекарственных средств в отношении их действия на центральную нервную систему. Методика оценки функциональной активности гликопротеина-Р в головном мозге была запатентована (Патент России №RU 2677286 С1. 2019).

Полученные результаты по ингибирующему влиянию этилметилгидроксиридина сукцината на активность гликопротеина-Р необходимо учитывать при совместном назначения с другими лекарственными препаратами центрального действия, для прогнозирования нежелательных межлекарственных взаимодействий на уровне белков-транспортеров и корректировки схем лечения и комбинаций с другими фармакологически активными веществами.

Данные по влиянию этилметилгидроксиридина сукцината на количество транскрипционных факторов HIF-1 α и Nrf2 позволяют обосновать профилактическое применение препарата при гипоксических состояниях.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключений

Положения и выводы диссертационной работы Мыльникова П.Ю. обоснованы и не вызывают сомнений. Достоверность полученных результатов обусловлена использованием современного оборудования и валидированных методик анализа, дизайном исследования, составленным согласно современным требованиям регуляторных органов, достаточным объёмом достоверных данных, полученных в ходе экспериментальных работ, грамотной статистической обработкой результатов.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Данные, об ингибирующем влиянии этилметилгидроксиридуна сукцината на активность гликопротеина-Р следует использовать как основание для проведения клинических исследований по оценке возможных фармакокинетических межлекарственных взаимодействий с лекарственными средствами, являющимися субстратами изученного белка-транспортера.

Оценка содержания диссертации, её завершённость в целом

Диссертационная работа изложена на 138 страницах компьютерного текста и включает в себя следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты, обсуждение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений и список литературы. Представленный материал включает 31 рисунок и 14 таблиц, список литературы состоит из 66 источников отечественной литературы и 180 источников зарубежной литературы, в сумме составляя 246 источников литературы.

Во введении Мыльниковым П.Ю. изложены актуальность и значимость выбранной темы диссертации, чётко обозначены цель и задачи исследования, положения, выносимые на защиту; представлена научная новизна работы и её аprobация.

При изучении литературного обзора видна тщательность проработки теоретического материала, который чётко формирует представление о будущих объектах исследования. В данном разделе последовательно

изложены структура гематоэнцефалического барьера, а также представлены его особенности, способные влиять на фармакологический эффект лекарственных препаратов. Далее рассмотрены современные сведения об исследуемом препарате - этилметилгидроксиридина сукцинате. Обзор литературы завершается данными о гипоксии и оксидативном стрессе, и их взаимосвязи с транскрипционными факторами HIF-1 α и Nrf2, которые также изучаются в рецензируемой работе.

В разделе «Материалы и методы исследования» автор указывает использованные реактивы и приборы. Описание применяемых методик выполнено подробно и последовательно, проиллюстрировано рисунками. Все методики снабжены ссылками на соответствующие литературные источники, также, как и указание дозировок и способов введения исследуемых и контрольных лекарственных веществ в описании дизайна исследований. Представлены методы статистической обработки полученных данных.

Результаты диссертационной работы, изложены в 6 подразделах. В первой части описывается исследование *in vitro* на клеточной линии Caco-2, в котором установлено прямое ингибирующее влияние этилметилгидроксиридина сукцината на активность гликопротеина-Р, которое сравнимо с действием верапамила – классического ингибитора данного транспортера. В следующей части представлена разработка методики определения активности белка-транспортёра в гематоэнцефалическом барье, для которой в качестве маркерного субстрата был выбран фексофенадин. Приведена валидация методики, подтверждающая возможность ее использования для исследовательских целей. Третья часть логически продолжает предыдущую, показывая, что этилметилгидроксиридина сукцинат ингибирует функциональную активность гликопротеина-Р локально на уровне гематоэнцефалического барьера, что подтверждает результаты, полученные *in vitro*. В четвёртой части продемонстрировано отсутствие влияния изучаемого препарата на относительное количество транспортёра гликопротеина-Р в головном мозге.

Приведены сведения и для препарата сравнения – рифампицина, наглядно показывающие его индуцирующее действие, что соответствует современным представлениям о его эффектах. В пятой части рассмотрено воздействие гипоксии и сочетанного влияния гипоксии и этилметилгидроксиридина сукцината на активность и относительное количество гликопротеина-Р: в результатах отражено увеличение количества белка-транспортёра в мозге при гипоксии и отсутствие данного изменения при превентивном введении исследуемого препарата, хотя и при гипоксии, и при превентивном введении этилметилгидроксиридина сукцината наблюдалось повышение проницаемости гематоэнцефалического барьера для фексофенадина. В последней части результатов рассмотрено влияние как гипоксии, так и этилметилгидроксиридина сукцината, и их сочетанного действия на транскрипционные факторы HIF-1 α и Nrf2, а также выраженность окислительного стресса, определяемую по биохимическим показателям. Автором отмечено, что гипоксия, ожидаемо, приводит к увеличению относительного количества HIF-1 α и Nrf2. Введение же изучаемого препарата на фоне гипоксии уменьшает количество HIF-1 α , но при этом приводит к выраженному увеличению количества Nrf2 относительно уровня в серии гипоксии.

В обсуждении автор объясняет полученные результаты с использованием современных источников научной литературы, подтверждающих адекватность экспериментальных данных работы. Осмысление полученных результатов логически связывает этот раздел с представленными в диссертационной работе выводами.

В ходе диссертационного исследования успешно решены поставленные задачи. Выводы и положения, выносимые на защиту, соответствуют поставленным задачам и результатам исследований. Практические рекомендации представляются обоснованными.

Содержание автореферата отражает структуру, научные результаты и выводы диссертации. Текст автореферата оформлен в соответствии с требованиями ВАК Минобрнауки России.

Публикация и апробация результатов исследования

Основные результаты диссертационной работы Мыльникова П.Ю. отражены в 10 опубликованных научных работах: 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, из них 2 статьи в журналах, входящих в базы данных Scopus и Web of Science; 6 тезисов в материалах научных конференций; 1 патент Российской Федерации.

Принципиальных замечаний по диссертационной работе нет.

В плане дискуссии хотелось бы задать следующие вопросы:

1. Каков механизм влияния этилметилгидроксиридина сукцината на уровень транскрипционных факторов HIF-1 α и Nrf2?
2. Каким может быть механизм прямого ингибирования гликопротеина-Р этилметилгидроксиридина сукцинатом при условии, что препарат не является субстратом этого транспортёра?

Заключение

Диссертация Мыльникова Павла Юрьевича «Влияние этилметилгидроксиридина сукцината на функционирование гликопротеина-Р в гематоэнцефалическом барьере в норме и при острой гипоксической гипобарической гипоксии», представленная на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.6 - фармакология, клиническая фармакология, является самостоятельной законченной научно-квалификационной работой, содержащей решение актуальной научной задачи - экспериментального исследования влияния этилметилгидроксиридина сукцината на активность гликопротеина-Р в гематоэнцефалическом барьере и оценка его действия на транскрипционные факторы, участвующие в адаптации к гипоксии, имеющей существенное

значение для фармакологии, клинической фармакологии, что соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней» утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842, а её автор Мыльников Павел Юрьевич достоин присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.6 - фармакология, клиническая фармакология.

Отзыв обсужден и утвержден на заседании кафедры фармакологии НИУ «БелГУ». Протокол № 8 от 11.09 2022 года.

Директор НИИ фармакологии живых систем,
заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии
ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный
исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»),
доктор медицинских наук, профессор

Михаил Владимирович Покровский

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Белгородский государственный национальный
исследовательский университет».

Адрес: Россия, 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85.

Телефон: (4722) 30-12-11

Факс: (4722) 30 10 12

Электронная почта: info@bsu.edu.ru

Дата: «10 » 2022 г.

