

ОТЗЫВ
официального оппонента доктора медицинских наук
Яснечова Виктора Владимировича на диссертационную работу
Мыльникова Павла Юрьевича «Влияние этилметилгидроксиридиина
сукцината на функционирование гликопротеина-Р в
гематоэнцефалическом барьере в норме и при острой гипоксической
гипобарической гипоксии», представленную на соискание
ученой степени кандидата биологических наук по специальности
3.3.6 – фармакология, клиническая фармакология

Актуальность темы диссертационного исследования

Одно из актуальных направлений современной фармакологии – изучение транспортных систем, участвующих в таком важном фармакокинетическом процессе, как распределение лекарственных веществ. Наиболее клинически значимым белком-транспортером считается гликопротеин-Р, к субстратам которого относят 50% всех известных лекарственных средств. Данный транспортер локализован в энтероцитах кишечника, во всех тканевых барьерах, гепатоцитах и проксимальных почечных канальцах. Функционируя в качестве эффлюксного белка, он препятствует всасыванию, проникновению лекарственных веществ в органы и способствует их выведению из организма.

Как известно, активность гликопротеина-Р зависит от многих факторов внешней и внутренней среды, меняется при различной патологии и действии лекарственных средств. Ее оценка в гематоэнцефалическом барьере (ГЭБ) в норме, на фоне острой гипоксии и при назначении препаратов с противогипоксическим действием позволяет понять особенности функционирования указанного барьера, распределение лекарственных веществ, а также прогнозировать изменение их фармакологического эффекта, нежелательных побочных явлений и возможные фармакокинетические межлекарственные взаимодействия.

В связи с этим актуальность диссертационного исследования Мыльникова П.Ю., посвященного изучению влияния

этилметилгидроксипиридина сукцината на функционирование гликопротеина-Р в ГЭБ и относительное количество транскрипционных факторов HIF-1 α и Nrf2 в коре большого мозга крыс в норме и при острой гипоксической гипобарической гипоксии, не вызывает сомнений.

Научная новизна

В работе впервые экспериментально установлена способность этилметилгидроксипиридина сукцината ингибировать активность гликопротеина-Р *in vitro* на линии клеток Caco-2.

Также разработана методика оценки активности гликопротеина-Р локально в ГЭБ и выявлена способность изучаемого лекарственного средства ингибировать его активность при однократном внутривенном введении *in vivo*.

Выявлено увеличение активности исследуемого белка-транспортера при моделировании острой гипоксической гипобарической гипоксии, а также способность этилметилгидроксипиридина сукцината устранять данный эффект.

Кроме того, показано, что этилметилгидроксипиридина сукцинат при профилактическом однократном внутрибрюшинном и курсовом пероральном введении не вызывает изменения относительного количества транскрипционных факторов HIF-1 α и Nrf2 у интактных животных, но приводит к увеличению количества второго из них в коре большого мозга на фоне острой гипоксической гипобарической гипоксии.

Научно-практическая значимость

Полученные результаты о прямом ингибирующем влиянии этилметилгидроксипиридина сукцината на функциональную активность гликопротеина-Р в ГЭБ коры большого мозга могут быть использованы для прогнозирования возможных опасных комбинаций лекарственных средств.

Способность этилметилгидроксиридина сукцината при превентивном курсовом введении повышать относительное количество Nrf2 в условиях острой гипоксической гипобарической гипоксии может явиться обоснованием расширения рекомендаций для его профилактического применения.

Разработанный в ходе исследования метод оценки активности гликопротеина-Р локально в гематоэнцефалическом барьере (патент РФ на изобретение № 2677286) может использоваться при проведении доклинических исследований лекарственных средств.

Степень обоснованности и достоверности основных положений и выводов диссертации

Достаточный объем хорошо спланированных исследований, выполненных как *in vitro*, так и *in vivo*, использование валидированных экспериментальных моделей и тестов, а также детальный анализ полученных результатов позволяют утверждать, что выводы и положения диссертации экспериментально обоснованы.

Статистическая обработка полученных данных проведена с помощью адекватных методов математической статистики, общепринятых в медико-биологических исследованиях, в связи с чем достоверность полученных результатов и сделанных на этом основании выводов не вызывает сомнений.

Общая характеристика работы

Диссертационная работа изложена на 138 страницах компьютерного текста и включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов, главу с результатами собственных исследований, обсуждение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений и список литературы (состоящий из 246 источников, в том числе 180 зарубежных). Диссертация содержит 31 рисунок

и 14 таблиц, наглядно отражающих соответствующее содержание ее разделов.

Во введении обозначены актуальность темы исследования, степень разработанности проблемы, сформулированы цель и задачи исследования, описаны научная новизна работы, ее теоретическая и практическая значимость, общая методология исследования, перечислены положения, выносимые на защиту, приведены обоснование достоверности, данные об апробации результатов и их внедрении в практику, а также представлены личный вклад автора, сведения о публикациях по теме диссертации и ее структура.

В обзоре литературы подробно описаны свойства ГЭБ и его транспортные системы, в том числе мишень исследования – гликопротеин-Р. Приведенный материал для наглядности снабжен иллюстрациями. Данная фармакологическая характеристика этилметилгидроксиридина сукцинат, а также обоснован выбор для изучения транскрипционных факторов HIF-1 α и Nrf2. Содержание обзора литературы логически связано с экспериментальными задачами, решаемыми в диссертационной работе.

Во второй главе представлено детальное описание материалов и методов исследования *in vitro* и *in vivo* с указанием технического оснащения, используемых реагентов, а также приведены методика моделирования патологического процесса, валидация ранее разработанного метода определения содержания фексофенадина в плазме крови и схема выполнения имmunогистохимического исследования. Кроме того, указаны методы статистического анализа полученных данных.

В главе «Результаты исследования» показано прямое ингибирующее влияние этилметилгидроксиридина сукцинат на активность гликопротеина-Р, сопоставимое с действием известного ингибитора данного транспортера – верапамила. Разработанная методика оценки функциональной активности гликопротеина-Р в ГЭБ была надлежащим образом валидирована и использована для получения последующих результатов, показавших

ингибиование транспортера в эксперименте *in vivo*. Кроме того, представлены данные о влиянии острой гипоксической гипобарической гипоксии на проницаемость ГЭБ и относительное количество гликопротеина-R. Также установлено увеличение количества белка-транспортера в головном мозге при острой гипоксии и отсутствие таких изменений при профилактическом введении исследуемого препарата. На заключительном этапе исследования изучено действие этилметилгидроксиридина сукцината на связанные с острой гипоксией транскрипционные факторы HIF-1 α и Nrf2 и продемонстрирована способность указанного препарата дополнительно увеличивать уровень Nrf2 при данной патологии.

В главе «Обсуждение результатов» подведены общие итоги исследования, в краткой форме обобщены основные положения диссертации, проведен анализ полученных результатов и их сопоставление с данными литературы.

Выводы и практические рекомендации логичны и полностью вытекают из полученных результатов исследований, а также соответствуют поставленным задачам.

Автореферат отражает основные положения диссертации и оформлен в соответствии с современными требованиями.

Результаты исследований полностью опубликованы в 10 печатных работах, в том числе в 3 статьях в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России (2 из них – в журнале, входящем в базы данных Web of Science и Scopus), а также получен 1 патент РФ на изобретение.

Критические замечания и вопросы по диссертации

Принципиальных возражений диссертация не вызывает, однако в ней встречаются опечатки, неточности, неудачные стилистические обороты.

Также при ознакомлении с работой возникли следующие вопросы:

1. Какие компоненты механизма противогипоксического и антиоксидантного действия этилметилгидроксиридина сукцината при острой гипоксической гипобарической гипоксии из числа изученных Вами и уже известных, по Вашему мнению, являются ключевыми?

2. Как Вы оцениваете клинические перспективы применения этилметилгидроксиридина сукцината при болезни Альцгеймера и других нейродегенеративных заболеваниях с учетом данных о его способности увеличивать относительное количество редокс-чувствительного транскрипционного фактора Nrf2 в коре большого мозга животных?

Необходимо отметить, что сделанные выше критические замечания и заданные вопросы носят дискуссионный характер и не влияют на положительную оценку диссертации в целом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Мыльникова Павла Юрьевича «Влияние этилметилгидроксиридина сукцината на функционирование гликопротеина-Р в гематоэнцефалическом барьере в норме и при острой гипоксической гипобарической гипоксии» является самостоятельной завершенной научно-квалификационной работой, посвященной решению актуальной научной задачи – изучению влияния этилметилгидроксиридина сукцината на активность и относительное количество гликопротеина-Р в гематоэнцефалическом барьере и транскрипционные факторы HIF-1 α и Nrf2 в ткани головного мозга на фоне острой гипоксии, что имеет существенное значение для фармакологии, клинической фармакологии. По актуальности темы, объему выполненных автором исследований, новизне полученных данных и их научно-практической значимости, опубликованным результатам диссертационная работа полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в редакции постановлений Правительства РФ № 335 от 21.04.2016 г., № 748 от

02.08.2016 г., № 650 от 29.05.2017 г., № 1024 от 28.08.2017 г., № 1168 от 01.10.2018 г., № 426 от 20.03.2021 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.6 – фармакология, клиническая фармакология.

И.о. ведущего научного сотрудника –
заведующего лабораторией экспериментальной
и клинической фармакологии,
заместителя заведующего отделом
космической радиобиологии и фармакологии
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Государственный научный центр РФ –
Институт медико-биологических проблем
Российской академии наук
(ГНЦ РФ – ИМБП РАН),
доктор медицинских наук

Яснецов Виктор Владимирович

«14» марта 2022 г.

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, 123007, г. Москва, Хорошевское шоссе, 76А,
телефон: 8 (903) 700-87-18, e-mail: vicyas@yandex.ru

Подпись д.м.н. В.В. Яснецова заверяю

Ученый секретарь
ГНЦ РФ – ИМБП РАН
доктор биологических наук



Левинских Маргарита Александровна