

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой фармакологии с курсом фармации ФДПО ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России Якушевой Елены Николаевны на диссертацию Маховой Анны Александровны «Регуляция активности ферментов метаболизма лекарственных препаратов системы цитохрома P450 3A4 витаминами и витаминоподобными веществами» на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.06 - Фармакология, клиническая фармакология

Актуальность темы

Актуальность проблемы связана с тем, что цитохромы семейства P450, являясь оксидазами смешанной функции, отвечают в организме человека за метаболизм большинства лекарственных и других экзогенных и эндогенных веществ. Монооксигеназная система цитохромов P450 выполняет функции контроля, элиминации и регуляции ксенобиотиков. Кроме того, системы цитохромов P450 являются одним из источников генерации активных форм кислорода (АФК). Оксидативные условия могут изменять биологические функции ферментативных систем эндоплазматического ретикулума, вовлеченных в биотрансформацию лекарственных препаратов. Изучение метаболизма лекарственных веществ является необходимым условием доклинических исследований препаратов. Выявление межлекарственных взаимодействий на этапе биотрансформации позволяет прогнозировать нежелательные фармакокинетические взаимодействия лекарственных средств и обеспечивает безопасность фармакотерапии. Возможная лекарственная интерференция, возникающая при назначении пациенту комплексной фармакотерапии, чаще всего происходит на уровне изоферментов цитохрома P450. Важно подчеркнуть, что эффективные неинвазивные модели оценки

лекарственного взаимодействия могут войти в арсенал P4 медицины (P4 Medicine is Predictive, Preventive, Personalized and Participatory): предиктивной, профилактической, персонализированной и партисипативной, т.е. предполагающей как активное участие самого пациента, так и привлечение разных специалистов для предотвращения болезни. По отношению к каталитической активности цитохромов P450 наиболее изучено влияние трех групп химических соединений: субстраты, ингибиторы (среди которых лекарственные препараты, проявляющие как субстратные, так и ингибиторные свойства), а также индукторы. Витамины группы В, витамины-антиоксиданты (витамин А, витамин Е, витамин С), витаминоподобные вещества (таурин, коэнзим Q, липоевая кислота, L-карнитин) широко назначаются в клинической практике врачами различных специальностей, являются эссенциальными органическими соединениями, которые участвуют в основных биохимических процессах в организме человека.

С учетом высокой частоты применения комбинированной фармакотерапии у коморбидных пациентов, в том числе с назначением витаминов, витаминоподобных веществ и антиоксидантных препаратов, особенно важно изучать возможные межлекарственные взаимодействия, в том числе на уровне изменения функции изоферментов цитохрома P450.

Таким образом, через модуляцию активности ферментов системы цитохрома P450 изофермента 3A4 с помощью назначения витаминов и витаминоподобных веществ возможно регулировать биотрансформацию лекарственных средств, что является новым и актуальным направлением персонализированной фармакотерапии.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций

Говоря об обоснованности диссертационной работы Маховой Анны Александровны, в первую очередь, следует обратить внимание на комплексность разработки и решения поставленных задач - сочетание

экспериментального и клинического подходов и их последовательная реализация.

Научные положения, выводы и практические рекомендации, представленные в диссертации Маховой А.А., четко аргументированы, основаны на достоверных данных. В свою очередь, из научных положений, защищаемых автором, на основе анализа значимых результатов исследования, закономерно вытекают выводы, имеющие несомненное научное и практическое значение.

Цель данного диссертационного исследования - оптимизация фармакотерапии витаминами и витаминоподобными веществами на основе способности данных групп фармакологических препаратов регулировать активность изофермента 3А4 цитохрома Р450. Работа представляет собой клинико-экспериментальное исследование, объединяющее экспериментальную электрохимическую методику *in electrode*, которая позволяет изучать взаимодействие лекарственных веществ на рекомбинантом изоферменте 3А4 цитохрома Р450 и клиническое исследование на добровольцах и пациентах. Дизайн исследования четко спланирован и логичен. С помощью модифицированной диссертантом экспериментальной электрохимической скрининговой методики, отобраны вещества - таурин и L-карнитин - перспективные для дальнейшего клинического применения как антиоксиданты или модуляторы системы цитохрома Р450. Далее проведены исследования *in vivo* - у добровольцев и пациентов с применением неинвазивной методики анализа соотношения 6β-гидроксикортизол/кортизол в моче для оценки активности цитохрома Р450 изофермента 3А4 на фоне комбинации препаратов.

Обоснованность и достоверность положений, выносимых на защиту и выводов, определяется достаточным фактическим материалом, высоким методическим уровнем проведенного исследования, информативностью использованных в работе методов исследования, корректностью методов

статистической обработки данных. Использованные экспериментальные и клинические методики способны реализовать поставленные цель и задачи диссертационного исследования. Выводы логично вытекают из полученных результатов и соответствуют целям и задачам данной научной работы. Таким образом, четко спланированный поэтапный дизайн исследования и использование адекватных научных методов позволили решить поставленные задачи на высоком научно-практическом уровне.

Достоверность и новизна полученных результатов

Достоверность положений, выносимых на защиту и выводов, обусловлена достаточным фактическим материалом (как экспериментальным, так и клиническим – 18 здоровых добровольцев, 36 пациентов с онихомикозом, 18 пациентов с болевым синдромом травматического генеза, что соответствует требованиям к проведению клинических исследований по фармакокинетике и взаимодействию лекарственных препаратов), высоким методическим уровнем проведенного исследования, информативностью использованных в работе методов исследования, корректностью методов статистической обработки данных.

В результате сочетания экспериментального и клинического подходов и их последовательной реализации автором предложено новое направление в персонализированной фармакотерапии - модулирование работы ферментов системы цитохрома P450 изофермента 3A4 веществами природного происхождения.

Диссертанту впервые удалось доказать, что тиамин, рибофлавин, пиридоксин, витамины-антиоксиданты (витамин А, витамин Е, витамин С), а также витаминоподобные вещества таурин и коэнзим Q, могут быть использованы с целью фармакологической регуляции активности изофермента 3A4 цитохрома P450. Впервые было доказано наличие ингибирующего действия на активность изофермента 3A4 цитохрома P450 у витаминов группы В (В₁, В₂ и

В₆) и у высоких доз аскорбиновой кислоты. Таким образом, их применение в составе комплексной терапии может увеличивать риск относительной передозировки применяемых одновременно лекарственных препаратов – субстратов данной изоферментной формы цитохрома Р450. Установлено индуцирующее действия коэнзима Q, витамина Е, витамина А, таурина, низких доз витамина С, что может привести к снижению фармакологического эффекта применяемых одновременно лекарственных препаратов этиопатогенетической терапии.

Диссертантом в электрохимическом эксперименте показана возможность таурина нивелировать ингибирующее действие итраконазола и эритромицина по отношению к изоферменту 3А4 цитохрома Р450. Автор впервые исследовал у здоровых добровольцев влияние таурина и L-карнитина на активность изофермента 3А4 цитохрома Р450 с помощью неинвазивного метода по тесту определения соотношения 6β-гидроксикортизол/кортизол в моче.

Диссертант впервые оценил влияние комбинированной терапии итраконазолом и таурином на активность изофермента 3А4 цитохрома Р450 у больных гипертрофическим онихомикозом с помощью неинвазивного метода с определением соотношения 6β-гидроксикортизол/кортизол в моче и показал, что одновременное применение таурина может снизить ингибирование изофермента СYP 3А4 итраконазолом.

Заслуживает внимания с практической точки зрения разработанная автором классификация витаминов и витаминоподобных веществ на основе их влияния на цитохром Р450 3А4 человека.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Работа Маховой А.А. выполнена на современном научно-методическом уровне, а полученные результаты имеют важное значение, как в теоретическом, так и в практическом отношении.

Автором модифицирована и внедрена неинвазивная электрохимическая методика *in electrode*, которая может применяться на этапе доклинических исследований с целью выявления потенциального влияния лекарственных веществ на систему цитохрома P450 изофермента 3A4, а также для скрининговой оценки межлекарственных взаимодействий и прогноза нежелательных взаимодействий препаратов в клинической практике. Построены и изучены модели влияния веществ-модуляторов активности цитохрома P450 3A4, веществ-субстратов, веществ-ингибиторов. Для витамина С показано разнонаправленное дозозависимое влияние на каталитическую активность изофермента 3A4 цитохрома P450 - в высоких дозах он является ингибитором, в низких дозах индуктором.

Диссертантом доказана роль таурина как индуктора активности изофермента 3A4 цитохрома P450 благодаря проведению комплекса экспериментальных электрохимических и фармакокинетических исследований на добровольцах и пациентах. Назначение таурина совместно с итраконазолом, показало снижение ингибирования активности изофермента 3A4 цитохрома P450 у пациентов с онхомикозом, что повысило безопасность фармакотерапии. Повышение безопасности фармакотерапии, в свою очередь, позволило проводить более длительные курсы лечения итраконазолом, что увеличило эффективность терапии пациентов с онхомикозом.

На основании результатов, полученных в диссертационном исследовании, внесено изменение в инструкцию по медицинскому применению лекарственного препарата Дибикор (МНН таурин): раздел показания дополнен показанием к применению в качестве гепатопротектора при лекарственных поражениях печени, вызываемых противогрибковыми лекарственными препаратами.

Автором предложена клинически значимая классификация витаминов и витаминоподобных веществ по виду воздействия на каталитическую активность

рекомбинантного СУР 3А4 с целью возможности прогнозирования врачами различных специальностей межлекарственных взаимодействий между витаминами, витаминоподобными веществами и этиопатогенетическими препаратами, метаболизм которых протекает при участии изофермента 3А4 цитохрома Р450.

Следует отметить, что выявление ингибирующего действия на изофермент 3А4 цитохрома Р450 у витаминов группы В и высоких доз аскорбиновой кислоты, должно учитываться врачами, поскольку повышается риск передозировки препаратов этиопатогенетической терапии – субстратов данного изофермента цитохрома Р450. Благодаря доказанному индуцирующему действию назначение таких витаминов-антиоксидантов как витамина А, витамина Е и коэнзима Q, может привести к снижению терапевтической концентрации одновременно назначаемых лекарственных препаратов.

Таким образом, полученные автором данные позволяют подчеркнуть их ценное теоретическое и научно-практическое значение, связанное с влиянием витаминов и витаминоподобных веществ на изоформу 3А4 системы цитохрома Р450 человека.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Электрохимическая методика *in electrode*, модифицированная автором для оценки межлекарственных взаимодействий рекомендуется для более широкого внедрения на этапе доклинических исследований в качестве скрининговой для оценки влияния лекарственных препаратов на активность изоферментов цитохрома Р450.

Разработанная и предложенная автором классификация витаминов и витаминоподобных веществ по их влиянию на систему цитохрома Р450 3А4, должна быть доведена до сведения практикующих врачей, с целью использования для прогнозирования возможных взаимодействий между

препаратами из группы этиопатогенетической терапии, витаминами и витаминоподобными веществами. Разработанная классификация является основой выбора оптимальных схем назначения препаратов в комплексной терапии.

Целесообразно продолжить изучение возможностей индуцирующего действия таурина на активность изофермента 3A4 цитохрома P450 при использовании других препаратов-ингибиторов системы цитохрома P450 с целью повышения безопасности фармакотерапии.

С учетом научно-практической значимости данного исследования для клинической фармакологии, результаты, изложенные в выводах и практических рекомендациях, целесообразно использовать в работе лечебно-профилактических учреждений врачами общей практики, клиническими фармакологами при проведении комбинированной фармакотерапии с назначением витаминов и витаминоподобных веществ с целью повышения эффективности и безопасности фармакотерапии.

Полученные данные рекомендуется использовать в научно-педагогическом процессе медицинских образовательных учреждений высшего и последипломного образования, в том числе для подготовки ординаторов по специальности «терапия», «клиническая фармакология», а также программ повышения квалификации врачей-терапевтов, врачей клинических фармакологов и других специалистов.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации, оценка ее завершенности

Работы выполнена в соответствии с требованиями ВАК Минобрнауки России.

Диссертация изложена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, глав собственных результатов и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка использованной

литературы. Работа содержит 226 страниц компьютерного текста, иллюстрирована 29 рисунками и 16 таблицами.

Во введении обоснованно изложены вопросы актуальности проблемы, сформулированы цели и задачи исследования, четко обозначены новизна полученных результатов, их практическая значимость.

В первой главе, автор подробно описывает современное состояние изучаемой проблемы, приводится подробное исследование возможностей изучения активности цитохромов P450 на основании анализа большого количества отечественных и зарубежных источников. Объясняются приоритетная и значимая роль прямой электрохимии в оценке активности системы цитохрома P450 3A4.

Во второй главе подробно описываются материалы и методы исследования, приводятся четкие схемы организации исследования, описываются применяемые вещества, электрохимическая методика и неинвазивная методика оценки активности изоформы 3A4 цитохрома P450 *in vivo*, методы статистического анализа.

Третья глава содержит результаты собственных исследований, где подробно анализируется влияние маркерного субстрата диклофенака и маркерного ингибитора итраконазола на активность цитохрома P450 3A4, приводятся данные по влиянию витаминов-антиоксидантов, витаминов группы В, витаминоподобных веществ на изоформу CYP3A4 цитохрома P450 в соответствии с задачами исследования.

В четвертой главе обсуждаются полученные в ходе диссертационной работы результаты с привлечением данных отечественных и зарубежных исследователей. Автором убедительно доказаны и соотнесены с имеющимися современными научными представлениями по изучаемой проблеме положения, выносимые на защиту.

Выводы диссертации соответствуют поставленным диссертанткой задачам, что характеризует завершенность работы.

Автореферат диссертации достаточно полно отражает содержание и основные результаты исследования.

Результаты диссертационного исследования были представлены в виде докладов на региональных научных мероприятиях и конференциях с международным участием. По материалам диссертации опубликовано 30 печатных работ, в том числе 10 в рецензируемых журналах, рекомендуемых ВАК Минобрнауки России, 2 статьях в иностранной печати, в журналах, индексируемых в международных базах данных Scopus и Web of Science, глава в монографии «Monooxygenase, Peroxidase and Peroxygenase Properties and Mechanisms of Cytochrome P450» под редакцией E. G. Hrycaj, S. M. Bandiera в издательстве Springer International Publishing Switzerland, 2015; 3 монографиях.

Диссертационная работа написана грамотным научным литературным языком и производит положительное впечатление. К достоинствам представленной научной работы необходимо отнести методичность и детальность изложения материала, наглядность демонстрации данных в таблицах и рисунках, логичность и последовательность формулировки выводов. Диссертационная работа подготовлена на базе организаций, имеющих большой многолетний опыт в изучении фармакокинетики лекарственных веществ, проблем межлекарственных взаимодействий и в проведении клинических исследований, поэтому она интересна по замыслу и по исполнению.

Замечания по диссертационной работе

Существенных замечаний по работе нет. Целесообразно было указать в разделе «Материалы и методы» непараметрические методы статистического анализа, о которых упоминалось в клинической части главы «Результаты исследования». Как и любая большая работа, она не лишена недостатков технического характера, опечаток, стилистических погрешностей.

Замечания не снижают достоинств работы и общего положительного впечатления от нее, а также ценности полученных результатов.

В плане научной дискуссии хотелось бы задать автору следующие вопросы.

1. Почему выбран именно электрохимический метод определения принадлежности лекарственных средств к субстратам и ингибиторам изофермента 3А4 цитохрома Р450?
2. Считаете ли Вы электрохимический метод оценки принадлежности лекарственных веществ к субстратам и ингибиторам системы изофермента 3А4 цитохрома Р450 трансляционным для клиники?
3. Можно ли электрохимическим методом оценить силу (выраженность) ингибирующего действия, можно ли предложить для этого какие-либо пороговые значения? Ряд методов позволяют это сделать.
4. Можно ли изучать этим методом межлекарственные взаимодействия на уровне других изоферментов цитохрома Р450?
5. Почему Вы не учитывали полиморфизмы гена цитохрома Р450 3А4 у здоровых добровольцев и пациентов?

Заключение

Диссертация Маховой Анны Александровны «Регуляция активности ферментов метаболизма лекарственных препаратов системы цитохрома Р450 3А4 витаминами и витаминоподобными веществами», представленная к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная проблема оптимизации фармакотерапии витаминами и витаминоподобными веществами за счет прогнозирования межлекарственного взаимодействия на этапе биотрансформации, имеющая важное значение для фармакологии, клинической фармакологии. Диссертационная работа соответствует

требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология.

Официальный оппонент:

заведующий кафедрой фармакологии с курсом фармации ФДПО
ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России,
доктор медицинских наук (14.03.06 – Фармакология, клиническая
фармакология), профессор  Елена Николаевна Якушева

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)

Адрес: 390026 г. Рязань, ул. Высоковольтная, 9.

Тел. 8 (4912) 46 08 01

Факс 8 (4912) 48 08 08

Электронная почта: rzgmu@rzgmu.ru

Подпись Е.Н. Якушевой заверяю
проректор по научной работе и инновационному развитию
ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России
д.м.н., доцент



И.А. Сучков

«28» 08 2018 г.