

УТВЕРЖДАЮ

Ректор федерального государственного  
бюджетного образовательного  
учреждения высшего образования  
«Рязанский государственный  
медицинский университет  
имени академика И.П. Павлова»  
Министерства здравоохранения  
Российской Федерации,

доктор медицинских наук, профессор  
Р.Е. Калинин

«14» октября 2024 г.



### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

федерального государственного бюджетного образовательного учреждения  
высшего образования

«Рязанский государственный медицинский университет  
имени академика И.П. Павлова»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

Диссертация «Нейропротекторная роль гликопротеина-R и его функционирование при экспериментальном паркинсоническом синдроме» выполнена на кафедре фармакологии.

В период подготовки диссертации соискатель Градинарь Мария Михайловна работала ассистентом кафедры фармакологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В 2020 году окончила федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации по специальности «Лечебное дело».

Справка о сдаче кандидатских экзаменов № 1810 выдана в 2024 году федеральным государственным бюджетным образовательным учреждением высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Федерации.

Научный руководитель: Щулькин Алексей Владимирович, доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармакологии, профессор кафедры.

По итогам обсуждения диссертации принято следующее заключение:

#### **Актуальность темы исследования**

Гликопротеин-P (Pgp, ABCB1, *MDR1*-белок) – это трансмембранный белок, кодирующийся геном *MDR1*, который участвует в транспорте эндогенных и экзогенных веществ из клетки за счет энергии АТФ.

К субстратам Pgp относится широкий спектр лекарственных веществ (химиотерапевтические средства, ингибиторы ВИЧ-протеазы, антидепрессанты, противоэпилептические и противопаркинсонические препараты и др.), а также ряд нейротоксинов (диазинон, 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин (МРТР) и ротенон).

В головном мозге Pgp экспрессируется на люминальной поверхности эндотелия сосудов гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), где он ограничивает проникновение своих субстратов и выводит их из паренхимы головного мозга.

Функциональная активность данного белка-транспортера под влиянием различных веществ и ряда факторов может снижаться или увеличиваться. При одновременном применении индукторов Pgp с его субстратами происходит снижение концентрации субстратов в плазме крови и снижение их проникновения в головной мозг через ГЭБ. Совместное назначение субстратов и ингибиторов белка-транспортера, наоборот, приводит к повышению проникновения первых в головной мозг и увеличению их концентрации в плазме крови, что может привести к развитию нежелательных лекарственных реакций со стороны центральной нервной системы (ЦНС).

Болезнь Паркинсона (БП) – социально значимое, медленно

прогрессирующее, хроническое, нейродегенеративное заболевание центральной нервной системы, при котором развиваются моторные и немоторные нарушения, приводящие к социальной, профессиональной и бытовой дезадаптации, снижению повседневной активности и качества жизни. В основе патогенеза БП лежит разрушение и гибель дофаминергических нейронов черной субстанции, среднего мозга и других отделов центральной нервной системы.

Причинами БП является множество эндогенных и экзогенных факторов. Одним из наиболее значимых этиопатогенетических экзогенных факторов на сегодняшний день является воздействие нейротоксинов, в первую очередь пестицидов. Люди, имеющие контакт с пестицидами, заболевают в 1,5 раза чаще.

Лечение БП на сегодняшний день является недостаточно эффективным, несмотря на большое количество новых лекарственных препаратов, современных подходов и схем терапии. Профилактика данного заболевания практически не разработана. Поэтому актуальной задачей является исследование биохимических механизмов развития данной патологии, что позволит выявить новые точки приложения для профилактики и терапии, а также ранние маркеры развития патологии.

Для ряда нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, шизофрения, аутизм характерна дисфункция ГЭБ с нарушением структуры плотных контактов и дизрегуляцией белков транспортеров, одним из которых является Pgp.

Функционирование Pgp при БП является практически неизученным. Поэтому актуальной и важной задачей биохимии является оценка функционирования, механизмов регуляции и роли белка-транспортера гликопротеина-P в гематоэнцефалическом барьере головного мозга крыс при экспериментальном паркинсоническом синдроме.

**Личное участие соискателя в получении результатов,  
изложенных в диссертации**

Автором самостоятельно было исследовано влияние экспериментального паркинсонизма, вызванного введением ротенона, на экспрессию, количество,

активность и локализацию гликопротеина-Р в головном мозге крыс, изучены механизмы регуляции транспортера при данной патологии. Дополнительно была протестирована стратегия индукции гликопротеина-Р в гематоэнцефалическом барьере для профилактики токсического действия нейротоксина ротенона.

Автором самостоятельно выполнен обзор литературы, проведена большая часть экспериментальных работ, обработаны и интерпретированы результаты, подготовлены публикации по диссертационной работе.

Объем и характер заимствованных фрагментов текста диссертации позволяют считать их законными цитатами.

### **Степень достоверности результатов проведенных исследований**

Статистический анализ проводился с использованием программ «Statsoft Statistica 13.0» (США, номер лицензии JPZ811I521319AR25ACD-W) и GraphPad Prism 8.1.2. («GraphPad Software», США). Характер распределения данных определяли по критерию Шапиро-Уилка. В случае нормального распределения данных статистическую значимость различий оценивали с помощью теста ANOVA, попарные сравнения выполняли с помощью критерия Фишера. При распределении данных, отличном от нормального, различия между сериями оценивали с помощью критерия Крускала-Уоллиса. При уровне значимости менее 0,05 проводили парное сравнение параметров с помощью критерия Манна-Уитни с поправкой Бонферонни.

Полученные в ходе исследования данные представлены как среднее арифметическое  $\pm$  стандартное отклонение (SD) при нормальном распределении данных или медианы, нижнего и верхнего квартилей при распределении данных, отличном от нормального.

Научные положения, полученные выводы и практические рекомендации достаточно обоснованы и логически вытекают из результатов исследования. В исследовании использован достаточный объем литературных источников как отечественных, так и иностранных авторов.

### **Новизна результатов проведенных исследований**

В ходе выполнения работы впервые оценено функционирование белка-

транспортера гликопротеина-Р в гематоэнцефалическом барьере и изучены его механизмы регуляции при экспериментальном паркинсоническом синдроме, вызванном введением ротенона. Получены новые данные о проницаемости гематоэнцефалического барьера при экспериментальном паркинсоническом синдроме. Разработана и валидирована методика количественного определения ротенона в коре больших полушарий головного мозга крыс.

Исследовано проникновение ротенона в головной мозг крыс при индукции активности гликопротеина-Р и оценена перспектива индукции транспортера для профилактики развития экспериментального паркинсонического синдрома, вызванного изучаемым нейротоксином.

### **Практическая значимость результатов проведенных исследований**

Результаты работы имеют важное практическое значение. Разработанную методику количественного определения ротенона можно использовать для диагностики отравления данным нейротоксином.

Полученные данные показывают перспективность индукции функциональной активности транспортера для профилактики развития паркинсонизма при контакте с нейротоксинами, так как предварительная индукция гликопротеина-Р перед введением ротенона приводит к снижению выраженности признаков паркинсонизма, вызванного введением данного нейротоксина.

### **Ценность научных работ соискателя**

Впервые произведена комплексная оценка функционирования и механизмов регуляции гликопротеина-Р при экспериментальном паркинсоническом синдроме.

Установлено, что одним из способов защиты нейронов головного мозга от воздействия токсических веществ-субстратов гликопротеина-Р является его индукция в гематоэнцефалическом барьере.

Разработана методика ВЭЖХ анализа ротенона в головном мозге крыс. Она является чувствительной, селективной, точной, прецизионной и пригодна для количественного определения данного вещества в биологических образцах.

### **Специальность, которой соответствует диссертация**

Диссертация посвящена оценке функционирования и механизмов регуляции

белка-транспортера гликопротеина-Р при экспериментальном паркинсоническом синдроме и перспектив его индукции для профилактики развития паркинсонизма, вызванного нейротоксином ротеноном. Она соответствует паспорту специальности 1.5.4. Биохимия (медицинские науки).

**Полнота изложения материалов диссертации в работах,  
опубликованных соискателем**

По материалам диссертации опубликовано 9 работ, полно отражающих основные положения диссертации, в том числе, 2 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России, одна из которых индексирована в базе Web of Science.

1. Функциональная активность гликопротеина-Р в гематоэнцефалическом барьере на фоне экспериментального паркинсонического синдрома / И.В. Черных [и др.]. – Текст: непосредственный // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2019. – Т.27, №2. – С. 150-159. (Соавт. Щулькин А.В., Мыльников П.Ю., Гацанога М.В., Есенина А.С., Градинарь М.М., Якушева Е.Н.)

2. Инсектицид ротенон как ингибитор функциональной активности гликопротеина-Р в гематоэнцефалическом барьере / И.В. Черных [и др.]. – Текст: непосредственный // Естественнонаучные основы медико-биологических знаний: материалы II Всероссийской конференции студентов и молодых ученых с международным участием. – Рязань, 2019. – Ч. 1. – С. 12-14. (Соавт. Щулькин А.В., Есенина А.С., Градинарь М.М., Якушева Е.Н.)

3. Сеидкулиева, А.А. Активность гликопротеина-Р в гематоэнцефалическом барьере при экспериментальном паркинсонизме / А.А. Сеидкулиева, А.С. Есенина, М.М. Градинарь. – Текст: непосредственный // Актуальные вопросы студенческой медицинской науки и образования: материалы V Всероссийской с международным участием студенческой научно-образовательной конференции. – Рязань, 2019. – С. 142-143.

4. Функционирование белка-транспортера гликопротеина-Р в гематоэнцефалическом барьере на фоне паркинсонического синдрома / М.М.

Градинарь [и др.]. – Текст: непосредственный // Актуальные проблемы биомедицины - 2020: сборник тезисов XXVI Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием. – Санкт-Петербург, 2020. – С. 54-55. (Соавт. Черных И.В., Есенина А.С., Сеидкулиева А.А.)

5. Индукция белка-транспортера гликопротеина-R в гематоэнцефалическом барьере как способ профилактики паркинсонического синдрома / М.М. Градинарь [и др.]. – Текст: непосредственный // Нейрохимия. – 2020. – Т.37, №3. – С. 257-262. (Соавт. Черных И.В., Щулькин А.В., Есенина А.С., Якушева Е.Н.)

6. Разработка и валидация методики количественного определения ротенона в гомогенате коры головного мозга крыс методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / М.М. Градинарь [и др.]. – Текст: непосредственный // Токсикологический вестник. – 2023. – Т.31, №2. – С. 120-126. (Соавт. Щулькин А.В., Черных И.В., Якушева Е.Н.)

7. Градинарь, М.М. Роль белка-транспортера Р-гликопротеина в развитии резистентности паркинсонизма к лекарственной терапии / М.М. Градинарь. – Текст: непосредственный // Достижения современной фармакологической науки: сборник материалов Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной 100-летию со дня рождения профессора А.А. Никулина и 80-летию Рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова. – Рязань, 2023. – С. 13-15.

8. Роль белка-транспортера гликопротеина-R в проникновении ротенона в головной мозг через гематоэнцефалический барьер / М.М. Градинарь [и др.]. – Текст: непосредственный // Прикладные информационные аспекты медицины. – 2024 – Т.27, №2. – С. 79-86. (Соавт. Щулькин А.В., Мыльников П.Ю., Черных И.В., Якушева Е.Н.)

9. Градинарь, М.М. Оценка проницаемости гематоэнцефалического барьера при экспериментальном токсическом паркинсонизме / М.М. Градинарь. – Текст: непосредственный // Медицина и фармация. Прошлое, настоящее, будущее: сборник научных материалов V Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – Орехово-Зуево: ГГТУ, 2024. – С. 38-39.

Диссертация «Нейропротекторная роль гликопротеина-Р и его функционирование при экспериментальном паркинсоническом синдроме» Градинарь Марии Михайловны рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Заключение принято на межкафедральном заседании кафедр: фармакологии; биологической химии; фармацевтической химии и фармакогнозии; управления и экономики фармации; фармацевтической технологии; сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной хирургии и лучевой диагностики ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. Присутствовало на заседании профессорско-преподавательского состава 14 человек. Результаты голосования: «за» – 14 человек; «против» – нет; «воздержалось» – нет (протокол № 1 от 3 октября 2024 года).

Председатель межкафедрального совещания:  
заведующий кафедрой фармакологии  
ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России,  
д.м.н., профессор

Якушева Елена Николаевна

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

Сучков Игорь Александрович

