

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной деятельности
ФГАОУ ВО Первый МГМУ
им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)
доктор медицинских наук, профессор

Т.А. Демура



« 2024 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

на основании решения заседания кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Диссертация «Фармакогенетические подходы к оптимизации прегравидарной подготовки фолатами» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук выполнена на кафедре клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Путинцева Анна Викторовна, 1975 года рождения, гражданство Российской Федерации, окончила Донецкий государственный медицинский университет имени М. Горького в 1998 году по специальности «Лечебное дело».

В 2021 году прикреплена для подготовки диссертации на соискание ученой степени кандидата наук без освоения программ подготовки научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре.

Справка о сдаче кандидатских экзаменов №1783/АЭ выдана в ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Научный руководитель:

Ших Евгения Валерьевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Текст диссертации был проверен в системе «Антиплагиат» и не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов.

По итогам обсуждения диссертационного исследования «Фармакогенетические подходы к оптимизации прегравидарной подготовки фолатами», представленного на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по научной специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, принято следующее заключение:

• **Оценка выполненной соискателем работы**

Диссертационная работа Путинцевой Анны Викторовны на тему «Фармакогенетические подходы к оптимизации прегравидарной подготовки фолатами» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по научной специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология является законченной научно-квалификационной работой и полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Данное исследование посвящено оптимизации прегравидарной подготовки с целью профилактики фолат-дефицитных состояний, которые ассоциируются с повышенным риском врожденных пороков и осложнений беременности. В рамках диссертационной работы было установлено, что у женщин с генотипами *MTHFR-677TT*, *MTHFR-1298CC*, *MTR-2756GG*, *MTRR-66AA*, *MTHFR-1298AC*, *MTR-2756AG*, в которых присутствуют минорные аллели полиморфизмов основных генов фолатного цикла, наблюдается статистически значимо повышенный уровень гомоцистеина и сниженный уровень фолатов по сравнению с женщинами, не имеющими носительства минорной аллели ($p < 0,001$). Эти изменения отклонялись от пороговых значений, обеспечивающих минимальный риск развития осложнений беременности.

У женщин европеоидной расы с различными вариантами носительства минорных аллелей генов фолатного цикла (*MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G*) были исследованы уровни фолатов, гомоцистеина и витамина В12 в плазме крови в динамике во время прегравидарной подготовки с использованием фолиевой кислоты (ФК) или кальция L-метилфолата и цианокобаламина в составе витаминно-минерального комплекса (ВМК).

На основе этих данных была разработана персонализированная схема применения различных форм фолатов в прегравидарный период, учитывающая индивидуальные генетические особенности женщин. Эта схема позволяет достичь оптимальной коррекции дефицита фолатов и минимизировать риск развития врожденных пороков и осложнений беременности.

- **Актуальность темы диссертационного исследования**

Профилактика врожденных пороков развития (ВПР) и осложнений беременности является одной из основных задач подготовки к беременности. Международные и отечественные профессиональные ассоциации едины в своих рекомендациях – необходима дотация ФК для устранения фолат-дефицитного состояния, снижения рисков развития ВПР и осложнений беременности. Однако, естественные фолаты пищи, фолат-содержащие препараты демонстрируют вариабельность биодоступности, которая определяется наличием или

отсутствием однонуклеотидных полиморфизмов генов, кодирующих активность основных ферментов фолатного цикла: *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G*. Фолатный цикл сопряжен с циклом синтеза аминокислоты метионина из гомоцистеина, при участии витамина В12 и двух ферментов: метионин-синтазы (*MTR*) и метионин-синтаз-редуктазы (*MTRR*). Распространенность полиморфизмов основных генов фолатного цикла в европейской популяции высока, например частота встречаемости гетерозиготного по минорной аллели Т генотипа *MTHFR-C677T* достигает 50%. Доказано, что однонуклеотидные полиморфизмы (*SNP*) генов, кодирующих активность ферментов фолатного цикла, достоверно являются одной из основных причин гипергомоцистеинемии (ГГЦ) и ассоциированных с ней осложнений беременности, таких как ВПР, преждевременные роды, отслойка плаценты, задержка роста плода, преэклампсия.

В настоящее время при подготовке к беременности используют две формы фолатов: синтетическую ФК и кальция L-метилфолат.

Применение синтетической ФК – наиболее часто используемый и проверенный способ дотации фолатов, в организме ФК подвергается серии ферментных реакций, в результате чего образуется 5-метил-тетрагидрофолат (5-МТГФ), ее метаболически активная форма. Применение синтетической ФК имеет прямую коррелятивную связь с увеличением уровня фолатов в эритроцитах и плазме крови, обратную связь с уровнем гомоцистеина.

Кальция L-метилфолат – это синтетическое производное, созданное на базе 5-метил-тетрагидрофолата (5-МТГФ), в организме распадается на ионы кальция и 5-МТГФ. В отличие от синтетической ФК, 5-МТГФ хорошо всасывается, даже при изменениях рН желудочно-кишечного тракта, не маскирует гематологические симптомы дефицита витамина В12 и обеспечивает достаточный уровень фолатов в тканях независимо от наличия полиморфизмов генов, кодирующих активность фермента *MTHFR*. 5-МТГФ не требует ферментативного превращения и обладает тем преимуществом, что способен компенсировать сниженную активность фермента *MTHFR* у женщин с полиморфизмом гена

MTHFR. Следовательно, применение 5-МТГФ целесообразно в случае наличия у пациентки полиморфизма генов ферментов фолатного цикла, так как обеспечивается процесс реметилирования даже в случае носительства минорной аллели *MTHFR*.

Международные ассоциации, включая рабочую группу Международной федерации акушеров-гинекологов (FIGO) по клинической практике «Медицины матери и плода», Общество акушеров-гинекологов Канады (SOGC) и Профилактическую службу США (USPSTF), в своих рекомендациях рассматривают полиморфизмы генов фолатного обмена как значимый фактор риска врожденных аномалий и осложнений беременности. В рекомендациях FIGO (2019), SOGC (2022) и USPSTF (2023) подчеркивается необходимость учета генетических факторов, снижающих уровень фолатов в сыворотке крови, у женщин при планировании беременности.

Таким образом, учитывая рекомендации международных экспертов, целесообразно персонализировать прегравидарную подготовку с учетом генетических особенностей пациенток, используя различные формы фолатов: синтетическую ФК и кальция L-метилфолат.

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

Автор внес значительный вклад в выполнение диссертационного исследования на всех этапах работы, таких как: определение темы исследования, проведение отбора и анализа отечественной и зарубежной литературы по теме исследования, составление алгоритма обследования, включение и наблюдение пациенток, сбор анамнеза. Автор провел физикальные и инструментальные исследования, включая регистрацию антропометрических данных, оценку жизненно важных показателей (частоты сердечных сокращений, уровня артериального давления, частоты дыхания), а также собрал образцы крови с целью проведения клинического и биохимического анализа, оценки уровня фолатов, гомоцистеина, цианкобаламина в крови, а также для определения полиморфизмов генов, кодирующих основные ферменты фолатного цикла:

MTHFR-C677T, MTHFR-A1298C, MTR-A2756G, MTRR-A66G. Автор сформировал базу данных, провел их статистическую обработку, сформулировал основные научные положения диссертационной работы, выводы и практические рекомендации. Автором лично и в соавторстве подготовлены публикации по материалам проведенного исследования.

- **Степень достоверности результатов проведенных исследований**

Достоверность полученных выводов клинического исследования обусловлена включением достаточного числа пациентов, однородностью исследуемой выборки. Выполнен обширный объем клинических, инструментальных и лабораторных обследований.

Лабораторные исследования проводились с использованием современных диагностических методов. Молекулярно-генетическое исследование основных генов ферментов фолатного цикла было проведено на дезоксирибонуклеиновой кислоте (ДНК), полученной из лейкоцитов периферической крови («Проба-РАПИД генетика»). Исследование выполнено методом полимеразной цепной реакции с детекцией продукта амплификации в режиме реального времени (амплификатор «ДТ-96») с использованием набора реагентов «Генетика метаболизма фолатов» (общество с ограниченной ответственностью «ДНК Технология», Москва).

Для оценки уровней фолатов, витамина В₁₂ и гомоцистеина был проведен хемилюминесцентный иммунный анализ на микрочастицах с использованием иммунохимического анализатора «Architect i2000» с хемилюминесцентной технологией Chemiflex. Результаты исследования были проанализированы с применением рекомендованных методов статистического анализа в медико-биологических исследованиях.

Научные методы анализа полностью соответствовали поставленным задачам. Практические рекомендации и выводы были основаны на полученных результатах и соответствуют цели и задачам диссертационного исследования.

- **Научная новизна результатов проведенных исследований**

В амбулаторно-поликлинической практике проведено изучение частоты встречаемости полиморфизмов основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* у женщин европеоидной расы г. Москвы, планирующих беременность, и сопоставление полученных результатов с уровнем фолатов, ГЦ, витамина В₁₂ в крови. Проведено сравнительное изучение динамики уровня фолатов, гомоцистеина и витамина В₁₂ при применении схем прегравидарной подготовки с использованием ФК или кальция L-метилфолата у женщин европеоидной расы, планирующих беременность.

Проведен сравнительный анализ достижения целевого уровня фолатов при применении различных схем фолатной поддержки в прегравидарный период в зависимости от генетических особенностей – от вариантов носительства минорной аллели основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G*.

Изучена ассоциация полиморфизмов генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* и развития осложнений беременности у наблюдающихся женщин.

В амбулаторно-поликлинической практике предложена оптимизация прегравидарной подготовки путем применения различных форм фолатов у пациенток в зависимости от вариантов носительства минорной аллели основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G*.

- **Практическая значимость проведенных исследований**

Изучена распространенность полиморфизмов основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* у женщин европеоидной расы, планирующих беременность.

Проанализирована взаимосвязь полиморфизмов основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* с уровнем фолатов, ГЦ, витамина В₁₂ в крови.

Изучена динамика уровня фолатов, ГЦ, витамина В₁₂ в крови женщин европеоидной расы, планирующих беременность, при проведении прегравидарной подготовки ФК или кальцием L-метилфолатом и цианокобаламином в составе витаминно-минерального комплекса (ВМК) у пациенток в зависимости от вариантов носительства минорной аллели основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G*.

Показано, что наличие полиморфизмов генов *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* является фактором риска развития осложнений беременности.

Предложена схема оптимизации прегравидарной подготовки путем применения различных форм фолатов у пациенток в зависимости от вариантов носительства минорной аллели основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G*.

- **Ценность научных работ соискателя ученой степени**

Полученные в исследовании данные позволили дополнить имеющуюся информацию об ассоциации полиморфизмов генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* с риском развития осложнений беременности у наблюдающихся женщин; о динамике уровня фолатов, гомоцистеина, витамина В₁₂ в крови женщин европеоидной расы, планирующих беременность, при проведении прегравидарной подготовки ФК или кальцием L-метилфолатом и цианокобаламином в составе ВМК. Эти данные были проанализированы в зависимости от вариантов носительства минорной аллели основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G*. Основные положения и результаты диссертации отражены в 5 научных работах, опубликованных в рецензируемых изданиях.

- **Внедрение результатов диссертационного исследования в практику**

Основные научные положения, выводы и рекомендации диссертационного исследования на тему «Фармакогенетические подходы к оптимизации

прегравидарной подготовки фолатами» внедрены в учебный процесс кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) при изучении дисциплин «Клиническая фармакология», «Пропедевтика внутренних болезней», читаемых студентам по направлениям подготовки 31.05.01 «Лечебное дело», 31.05.03 «Стоматология», а также читаемых ординаторам по направлению подготовки 31.08.37 «Клиническая фармакология». Акт внедрения №451 от 04.07.2024 года.

Результаты работы внедрены в клиническую практику лечебно-диагностического отделения частного учреждения здравоохранения «Центральная клиническая больница “РЖД-Медицина”» при проведении прегравидарной подготовки. Акт внедрения б/н от 23.05. 2024 года.

- **Этическая экспертиза научного исследования в Локальном этическом комитете (по медицинским и фармацевтическим наукам)**

Постановили: одобрить исследование в рамках диссертационной работы «Фармакогенетические подходы к оптимизации прегравидарной подготовки фолатами» по научной специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология. Выписка из протокола очередного заседания Локального этического комитета ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) №14-22 от 07.07.2022 г.

- **Научная специальность, которой соответствует диссертация**

Диссертационное исследование соответствует паспорту научной специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, пунктам 6, 10, 13 и 20.

Пункт № 6 – изучение фармакодинамики, фармакокинетики и лекарственных средств; установление связей между дозами, концентрациями и эффективностью лекарственных средств. Пункт № 10 – проведение фармакогенетических исследований. Пункт № 13 – изучение клинической эффективности лекарственных средств у пациентов с различными

заболеваниями в открытых, двойных слепых, рандомизированных, сравнительных и/или плацебо-контролируемых исследованиях. Пункт № 20 – разработка и оптимизация методов фармакотерапии и профилактики заболеваний у различных групп пациентов с учетом индивидуальных особенностей, включая исследование приверженности фармакотерапии (комплаентности).

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

По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ, в том числе 2 оригинальные научные статьи в изданиях, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета / Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; 2 статьи в изданиях, индексируемых в международной базе Scopus; 1 иная публикация.

Оригинальные научные статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета / Перечень ВАК при Министерстве образования науки России:

1. Путинцева, А.В. Влияние различных режимов фолатной поддержки в прегравидарный период на уровень гомоцистеина в зависимости от полиморфизма генов ферментов фолатного цикла / А.В. Путинцева, Е.В. Ших // Фармакология & Фармакотерапия. – 2022. – № 5. – С. 80–85.

2. Ших, Е.В. Фармакогенетические подходы к оптимизации режимов микронутриентной поддержки в период прегравидарной подготовки / Е.В. Ших, А.В. Путинцева // Фарматека. – 2022 – Т. 29. – № 9. – С. 38–45.

Оригинальные научные статьи в научных изданиях, включенных в международную, индексируемую базу данных Scopus:

1. Ших, Е.В. Полиморфизмы генов ферментов фолатного цикла: распространенность, взаимосвязь с уровнем гомоцистеина, фолиевой кислоты и

витамина В12 плазмы крови / Е.В. Ших, А.В. Путинцева // *Акушерство и гинекология*. – 2022. – № 3. – С. 104–111. (ВАК, Scopus).

2. Путинцева, А.В. Ассоциация полиморфизма генов ферментов фолатного цикла и риска развития осложнений беременности / А.В. Путинцева, Е.В. Ших // *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии*. – 2023. – Т. 22. – № 2. – С. 28–32. (ВАК, RSCI, Scopus).

Иные публикации:

1. Путинцева, А.В. Влияние различных режимов фолатной поддержки в прегравидарный период на уровень фолатов, цианокобаламина и гомоцистеина в зависимости от полиморфизма генов ферментов фолатного цикла / А.В. Путинцева // *Фармакогенетика и фармакогеномика*. – 2023. – № 2. – С. 26–27. (ВАК).

Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на научных конференциях:

1. Всероссийская научно-образовательная конференция «Путь к рождению здорового малыша» (5 апреля 2023 года, Ярославль);

2. VI Российская школа молодых ученых и врачей по фармакогенетике, фармакогеномике и персонализированной терапии (16–17 мая 2023 года, Москва);

3. Российский конгресс «Безопасность фармакотерапии 360°: NOLI NOCERE!» (19 мая 2023 года, Москва);

4. Всероссийская общеобразовательная конференция «Современные тренды поддержки репродуктивного здоровья женщины» (17 мая 2024 года, Ярославль).

Заключение

Диссертация соответствует требованиям п. 21 Положения о присуждении ученых степеней в ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом

от 06.06.2022 г. № 0692/Р, и не содержит заимствованного материала без ссылки на автора(ов).

Первичная документация проверена и соответствует материалам, включенным в диссертацию.

Диссертационная работа Путинцевой Анны Викторовны «Фармакогенетические подходы к оптимизации прегравидарной подготовки фолатами» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по научной специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Заключение принято на заседании кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Присутствовало на заседании 45 чел.

Результаты голосования: «за» – 45 чел., «против» – 0 чел., «воздержалось» – 0 чел., протокол №1 от «28» августа 2024 г.

Председательствующий на заседании

Доктор медицинских наук,
профессор кафедры
клинической фармакологии и
пропедевтики внутренних болезней
Института клинической медицины
имени Н.В. Склифосовского
ФГАОУ ВО Первый МГМУ
имени И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)



Дроздов В.Н.