

## ОТЗЫВ

**официального оппонента доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой биохимии и клинической лабораторной диагностики федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации Мустафина Ильшата Ганиевича на диссертационную работу Семенец Инны Александровны «Сравнительный анализ влияния липоевой кислоты и убихинона на метаболизм мышц при длительном приеме статинов», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.01.04 – биохимия**

### **Актуальность темы исследования**

В зарубежных и отечественных рандомизированных исследованиях продемонстрирована высокая эффективность ингибиторов гидроксиметилглутарил-коэнзим-А-редуктазы (статинов) в снижении как сердечно-сосудистой, так и общей смертности.

Однако, несмотря на многочисленные научные работы, отражающие неоспоримое преимущество ранней и продолжительной терапии статинами на положительную динамику сердечно-сосудистых патологий, связанных с высоким уровнем холестерина, все больше внимания уделяется нежелательным явлениям, проявляющимся при лечении данной фармакологической группой. В литературе имеется около 900 исследований, описывающих развитие неблагоприятных событий развивающихся на фоне статиновых терапий. Наиболее часто встречающимися осложнениями являются миопатии, миалгии, сахарный диабет и др.

По мере накопления новой информации, все актуальнее становится вопрос о безопасности длительного приема статинов. Например, токсичность статинов для пациентов с исходными незначительными мышечными нарушениями может быть обусловлена мутациями, связанными с уменьшением количества митохондриальных ферментов, что приводит к «митохондриальной дисфункции».

В литературе имеются сведения о клинических исследованиях, посвященных применению статинов и CoQ<sub>10</sub>. Известно, что статины снижают уровень липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) в плазме крови, а CoQ<sub>10</sub> транспортируется с помощью ЛПНП. Снижение уровня CoQ<sub>10</sub> также обнаруживается в тромбоцитах и в лимфоцитах

пациентов, получавших статины, что по мнению ряда авторов вызвано ингибированием синтеза убихинона, а именно фарнезила пирофосфата, как промежуточного продукта. Эти данные легли в основу гипотезы, что статиновая миопатия и «митохондриальная дисфункция» связаны с дефицитом CoQ<sub>10</sub>, как одного из ведущих факторов патогенеза.

В последнее время показано, что на начало, прогрессирование и последствия сосудистых событий, вызванных окислительным стрессом, влияют антиоксиданты, включение которых в схемы терапии больных с сердечно-сосудистыми патологиями не вызывает сомнений. Так, липоевая кислота – природное дитиоловое соединение, являющееся кофактором пируватдегидрогеназного комплекса и обладающее выраженными антиоксидантными свойствами. Она способна уменьшать окислительный стресс, характеризующийся повышенным уровнем внутриклеточных активных форм кислорода, которые вырабатываются активированными тромбоцитами, гладкомышечными клетками сосудов и различными воспалительными клетками при ряде состояний, например тканевой гипоксии. Наряду с этим липоевая кислота влияет на обмен холестерина, участвует в регулировании липидного и углеводного обмена, способствует утилизации глюкозы в скелетных мышцах независимо от действия инсулина.

Проведенный в диссертационном исследовании Семенец И.А. сравнительный анализ влияния липоевой кислоты и убихинона на внутриклеточные процессы, происходящие в мышечных тканях при длительном приеме статинов, а также выбор и оценка результативности выбранных природных метаболитов в качестве корректоров, способных стабилизировать молекулярные механизмы при статиновой миопатии и снизить риск поражения мышц, является актуальным.

### **Новизна исследования**

Впервые исследования проведены на модели эссенциальной гиперхолестеринемии, разработанной автором (патент на изобретение № 2733693 от 06.10.2020 г).

Впервые проведен сравнительный анализ биохимических показателей энергетического обмена и антиоксидантной защиты в мышечной ткани и

эритроцитах у животных с эссенциальной гиперхолестеринемией, длительно получавших симвастатин в сочетании с липоевой кислотой и коферментом Q<sub>10</sub>.

Впервые полученные результаты позволили установить особенности влияния естественных метаболитов (липоевой кислоты и коэнзима Q<sub>10</sub>) на обменные процессы, происходящие в мышечной ткани и эритроцитах животных с эссенциальной гиперхолестеринемией, длительно получавших симвастатин.

Несмотря на то, что и коэнзима Q<sub>10</sub>, и липоевая кислота благотворно действуют на обмен веществ, автор отдает предпочтение липоевой кислоте.

Полученные результаты исследования позволили разработать способ оптимизации кислородзависимых процессов при длительном введении симвастатина животным с использованием липоевой кислоты (патент на изобретение № 2741689 от 28.01.2021 г.).

### **Теоретическая и практическая значимость результатов исследования**

Представленные диссертантом результаты анализа активности ферментов II и IV комплексов дыхательной цепи митохондрий в сочетании с показателями углеводного обмена, ферментами антиоксидантной защиты в мышечной ткани и эритроцитах позволили внести новые представления в патогенез статиновой миопатии, свидетельствующие о важной роли «митохондриальной дисфункции», которая формируется при длительной терапии.

С практической точки зрения разработанный «Способ моделирования эссенциальной гиперхолестеринемии» (патент на изобретение № 2733693 от 06.10.2020 г.) может применяться для разработки схем оптимизации и перестройки метаболических процессов, направленных для устранения побочных эффектов статинов. Диссертантом отражена перспективность использования естественного метаболита липоевой кислоты для повышения эффективности адаптивных процессов, направленных на устранение побочных эффектов статинов, что позволило разработать «Способ оптимизации кислородзависимых процессов при длительном введении симвастатина животным с использованием липоевой кислоты» (патент на изобретение №

2741689 от 28.01.2021 г.)

**Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и практических рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Работа выполнена на достаточном объеме лабораторного материала: исследование проведено на 210 беспородных крысах-самцах, которые в процессе эксперимента были распределены на 8 групп, в соответствии с разработанным автором дизайном. Для достижения цели и выполнения задач диссертационного исследования использовали гиполипидемический препарат симвастатин – «Зокор<sup>®</sup>, 20 мг», а в качестве средств корректирующих побочные эффекты симвастатина «Тиоктацид<sup>®</sup> БВ, 600 мг» и «Кофермент Q10 (CoQ10), 30 мг».

Автором были проанализированы биохимические изменения в мышцах и эритроцитах у крыс, которые оценивали по комплексу интегральных показателей, характеризующих состояние углеводного обмена, ферментов дыхательной цепи (II и IV комплексов), а также системы глутатиона.

Статистическая обработка экспериментальных данных проводилась согласно общепринятым методам с определением средней арифметической, ошибки средней с использованием пакета прикладной программы STATISTICA версия 10.0 и Microsoft Office Excel Worksheet.

Полученные автором результаты достоверны, выводы и заключения обоснованы. Научные положения, вынесенные на защиту в форме научных утверждений, вытекающих из выводов, характеризуют вклад диссертанта в решение научной проблемы, отличающийся полученными новыми знаниями, развивающий существующую систему научных знаний.

**Оценка содержания диссертации**

Диссертация построена по традиционной схеме, состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Работа изложена на 132 страницах машинописного текста и состоит

из введения, 6 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, приложений и иллюстрирована 10 таблицами и 33 рисунками. Указатель литературы содержит 143 источника, из которых 74 отечественных и 69 зарубежных авторов.

**Обзор литературы** состоит из трех подразделов, которые посвящены анализу исторических и современных данных о статинах, убихиноне и липоевой кислоте. Диссертантом выстроена четкая логическая цепь, демонстрирующая химическую структуру веществ, их биохимические функции и результаты применения в медицине. Однако информация о механизмах негативного влияния статинов весьма лаконична.

**Во второй главе** изложены материалы и методы, применяемые в работе. Необходимо отметить широкий методологический портфель, использованный диссертантом для достижения поставленной цели. В главе описывается подробный дизайн исследования, позволяющий составить общую картину и проследить логику представленных результатов экспериментальной работы. Диссертантом были использованы адекватные биохимические методы исследования, позволившие вскрыть метаболические сдвиги при моделировании статиновой миопатии и проанализировать влияния липоевой кислоты и убихинона на обменные процессы в мышцах при длительном приеме статинов.

**Главы с третьей по шестую** представляют собой собственные данные диссертанта. В изложении материала следует отметить последовательность, аналитический подход и доступность. Каждая из глав посвящена реализации определенной задачи: в третьей главе представлены результаты биохимических изменений в скелетной мышце животных с эссенциальной гиперхолестеринемией после длительного введения симвастатина. В четвертой – особенности метаболических изменений в скелетной мышце животных с эссенциальной гиперхолестеринемией после длительного введения симвастатина в сочетании с убихиноном, а в пятой – в сочетании с липоевой кислотой. В шестой главе отражены особенности метаболических изменений в эритроцитах экспериментальных животных до и после коррекции.

**Заключение** диссертации представляет собой развернутое обсуждение полученных результатов исследований и содержит основные положения диссертации, на основании которых автор делает выводы и обосновывает практические рекомендации. Выводы сформулированы в должном соответствии с полученными диссертантом данными на основании их статистического анализа. Значимость для науки и практики полученных результатов несомненна.

В целом, заключение рассматриваемой диссертационной работы представляет собой последовательное, логически стройное подведение итогов в связи с целью и задачами, поставленными во введении. Однако, на мой взгляд, в разделе «Заключение» автором работы приведены повторно некоторые данные, представленные в главах собственных результатов исследований.

### **Внедрение результатов исследования**

Результаты диссертационного исследования применяются в учебном процессе на кафедрах «общей и клинической биохимии №1» и «фармакологии и клинической фармакологии» ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России.

### **Подтверждение публикаций по теме диссертации**

Всего по материалам диссертационной работы опубликовано 20 научных работ, из них 5 – в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертации, 1 работа индексируется международной реферативной базой SCOPUS, получено 2 патента на изобретение.

### **Замечания и вопросы по диссертации**

Принципиальных замечаний нет. В диссертационной работе имеются опечатки и несогласованные предложения, некорректные определения. Однако указанные недочеты не носят принципиального характера и не уменьшают научной и практической значимости проведенного исследования.

В ходе ознакомления с рукописью диссертации и авторефератом возникли вопросы:

1. Автором работы представлены данные о стимулировании аэробных процессов в эритроцитах под влиянием коэнзима  $Q_{10}$ . При этом в мышечной ткани отмечена противоположно направленная динамика в системе лактат/пируват, с преобладанием анаэробной направленности обмена. Как можно объяснить выявленные процессы? Какие аэробные процессы происходят в эритроцитах?
2. Какой механизм восстановления активности СДГ и ЦХО в мышцах при воздействии убихинона и стимулировании дыхательных ферментов липоевой кислотой?
3. В группе с экспериментальной гиперхолестеринемией при одновременном введении симвастатина и липоевой кислоты отмечено понижение уровня ПБК, тогда как уровень лактата повысился, но в меньшей степени, чем у животных, получавших убихинон. Как можно интерпретировать полученные результаты? Нет ли противоречия?

### **Заключение**

Диссертационная работа Семенец Инны Александровны «Сравнительный анализ влияния липоевой кислоты и убихинона на метаболизм мышц при длительном приеме статинов» является завершенной экспериментальной работой. На основании выполненных автором исследований разработаны теоретические и практические положения, совокупность которых позволила провести оценку эффективности применения убихинона и липоевой кислоты, а также выявить преимущество применения того или иного метаболического корректора при длительной статиновой терапии.

Диссертация по своей форме, методам исследования, содержанию, актуальности изучаемой темы, объему полученного автором материала, уровню аналитической и статистической обработки, обоснованности сформулированных выводов, новизне и достоверности положений, выносимых на защиту,

соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации «О порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к кандидатской диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Официальный оппонент:  
 заведующий кафедрой биохимии и клинической  
 лабораторной диагностики  
 федерального государственного  
 бюджетного образовательного учреждения  
 высшего образования «Казанский  
 государственный медицинский университет»  
 Министерства здравоохранения  
 Российской Федерации  
 доктор медицинских наук,  
 профессор

Мустафин Ильшат Ганиевич

Подпись И.Г. Мухарьямовой заверяю.  
 Первый проректор  
 ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России  
 доктор политических наук  
 профессор



Мухарьямова Лайсан Музиповна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет»  
 Министерства здравоохранения Российской Федерации  
 420012, Республика Татарстан, г.Казань, ул. Бутлерова, д.49  
 телефон: 8 (843) 253-60-26; e-mail: ilshat64@mail.ru

«23» 08 2021 г.



### СВЕДЕНИЯ

об официальном оппоненте диссертации Семенец Инны Александровны на тему «Сравнительный анализ влияния липоевой кислоты и убихинона на метаболизм мышц при длительном приеме статинов» на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.4. Биохимия, представленной для защиты в диссертационный совет 21.2.014.02, действующий на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (350063, г. Краснодар, улица Седина, дом 4, (861)262-50-18)

№	Фамилия Имя Отчество рецензента	Год рождения, гражданство	Место основной работы (название организации, ведомство, город, занимаемая должность)	Учёная степень (шифр специальности, по которой присуждена учёная степень в соответствии с действующей Номенклатурой специальностей научных работников, № свидетельства)	Учёное звание	Шифр специальности (отрасли науки) в диссертационн ом совете (с указанием отраслей; соответствующ его периода; отраслей и сфер деятельности)
1	2	3	4	5	6	7
1	Мустафин Ильшат Ганиевич	1964, Российская Федерация	федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России),	доктор медицинских наук, 14.00.16 – патологическая физиология	профессор	03.01.04 – биохимия (медицинские науки)

			<p>г. Казань, заведующий кафедрой биохимии и клинической лабораторной диагностики</p>			
<p>а) Перечень научных публикаций в изданиях, индексируемых в международных цитатно-аналитических базах данных Web of Science и Scopus, а также в специализированных профессиональных базах данных Astrophysics, PubMed, Mathematics, Chemical Abstracts, Springer, Agris, GeoRef, MathSciNet, BioOne, Compendex, CiteSeerX.</p>			<ol style="list-style-type: none"> <li>1. The off-label use of drugs for parenteral nutrition as a solvent of substances slightly soluble in water in pharmacological research/ Urakov A.L., Mustafin I.G., Samorodov A.V., Kamilov F.Kh., Khaliullin F.A. //Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research. 2018. - Т. 9. - N2 1 . - С.9- 14. Импакт-фактор - 0,54.</li> <li>2. Changes in HLA-DR Expression on Monocytes and Lymphocytes in Neonatal Sepsis/ Khaertynov, K.S., Anokhin, V .A., Mustafin, I.G., Khaertynova, A.K., Sofronova, S.A. //BioNanoScience. -2018.-8(2), с. 647-653. Импакт-фактор – 0,53.</li> <li>3. Inhibition of fibroblast growth factor receptor-signaling sensitizes imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumors to low doses of topoisomerase II inhibitors Boichuk, S., Dunaev, P., Galembikova, A., Mustafin, I ., Valeeva, E. //Anti-Cancer Drugs - 2018. - 29(6), с. 549-5. Импакт-фактор – 1 ,869.</li> <li>4. Thromboelastography as an instrument of preclinical studies of the potential drug /Urakov A.L., Mustafin I.G., Nabiullina R.M., Bashirova L.I., Mochalov K.S., Samorodov A.V., Khaliullin F.A., Lipatov D.O., Korunas V.I., Khalimov A.R. //Journal of Applied Pharmaceutical Science. - 2020. - Т. 10. № 8. - С. 105-110. DOI: DOI: 10.7324/JAPS.2020.10812. Импакт-фактор – 0,250.</li> <li>5. Inhibition of FGFR2-signaling attenuates a homology-mediated DNA repair in GIST and sensitizes them to DNA-topoisomerase II inhibitors. //Boichuk S.V., Dunaev P.D., Galembikova A.R., Bikinieva F., Nurgatina I.I., Mustafin I., Aukhadieva A., Kurtasanov R.S., Andriutsa N.S., Shagimardanova E.I., Gorbunova V. //International Journal of Molecular Sciences. - 2020. - Т. 21. - № 1. - С. 352. DOI: 10.3390/ijms21010352_IF: 4,556.</li> </ol>			

б) Перечень научных публикаций в журналах, входящих в Перечень РФ рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук, на соискание учёной степени доктора наук, с указанием импакт-фактора журнала на основании данных библиографической базы данных научных публикаций российских учёных - Российскому индексу научного цитирования (РИНЦ). (Указать выходные данные)

1. Система гемостаза у беременных, рожениц и родильниц с преэклампсией / И.Г. Мустафин, Е.Ю. Юпатов, Т.Е. Курманбаев, Р.М. Набиуллина, Ю.Л. Тимошкова, А.А. Шмидт, Н.В. Яковлев //Акушерство, гинекология и репродукция. – 2020. – Т.14, №4. – С.469-479. DOI: 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2020.14.4. Импакт-фактор – 0,492.
2. Протеомные технологии в разработке новых вакцин на основе серотип-неспецифичных белковых антигенов STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE/ Тюрин Ю.А., Зарипова А.З., Исаева Г.Ш., Мустафин И.Г., Баязитова Л.Т. // Казанский медицинский журнал. - 2019.-Т. 100, № 4. - С. 680-68. Импакт-фактор – 0,425.
3. Нарушения системы гемостаза как основной патогенетический механизм в возникновении аномальных маточных кровотечений в постменопаузальном периоде / Чечулина О.В., Курманбаев Т.Е., Тухватуллина Л.М., Хайруллина Э.А., Мустафин И.Г. // Казанский медицинский журнал. 2019. Т. 100. № 4. С. 589-594. Импакт-фактор – 0,425
4. «Глобальные» методы исследования системы гемостаза в современной акушерской практике / Мустафин И.Г., Курманбаев Т.Е., Шмидт А.А., Тимошкова Ю.Л., Атаянц К.М. // Казанский медицинский журнал. 2019. Т. 100. № 6. С. 958-964. Импакт-фактор – 0,303
5. Особенности экспрессии Р-селектина и агрегации тромбоцитов под действием лекарственных препаратов / Ураков А.Л., Самородов А.В., Камилов Ф.Х., Мустафин И.Г., Халиуллин Ф.А. // Фармация. 2017. Т. 66. № 3. С. 43-46. Импакт-фактор – 0,325
6. Современные методы оценки состояния системы гемостаза в акушерстве / Курманбаев Т.Е., Яковлев Н.В., Хасанов А.А., Мустафин И.Г., Набиуллина Р.М. // Аспирантский вестник Поволжья. 2016. № 5-6. С. 68-73. Импакт-фактор – 0,159

	7. Клеточные микровезикулы связываются с фибрином в процессе свертывания крови / Набиуллина Р.М., Мустафин И.Г., Литвинов Р.И., Зубаирова Л.Д. // Тромбоз, гемостаз и реология. 2016. № S3 (67). С. 302-303. Импакт-фактор – 0,546.
в) Общее число ссылок на публикации кандидата в члены диссертационного совета в РИНЦ	Общее число цитирований в РИНЦ – 656, Индекс Хирша – 13

Официальный оппонент:  
 заведующий кафедрой биохимии и  
 клинической лабораторной диагностики  
 федерального государственного бюджетного образовательного учреждения  
 высшего образования «Казанский государственный медицинский университет»  
 Министерства здравоохранения Российской Федерации  
 доктор медицинских наук, профессор



И.Г. Мустафин

Подпись И.Г. Мустафина заверяется



Первый проректор ФГБОУ ВО «Казанский университет»  
 Минздрава России, профессор



Л.М. Мухарьмова

« 09 » июля 2021 г.