

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора  
Островского Олега Владимировича  
на диссертацию Виноградовой Елены Викторовны  
на тему «Молекулярные механизмы статиновой миопатии»  
по специальности: 03.01.04 – биохимия  
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

### **Актуальность избранной темы**

Рецензируемая диссертационная работа посвящена изучению механизмов повреждающего действия статинов на скелетные мышцы. На сегодняшний день данные лекарственные препараты являются основным компонентом лекарственной терапии атеросклероза, снижающие кардиологический риск при ишемической болезни сердца. После того, как в начале 80-х годов появились статины, в терапии болезней, связанных с повышенным уровнем холестерина, произошла настоящая революция, так как многочисленные научные работы демонстрируют неоспоримые преимущества ранней и длительной терапии статинами.

Однако, несмотря на объективно положительную динамику в лечении сердечно-сосудистых заболеваний, обусловленную применением данных лекарственных препаратов широко известен ряд их побочных эффектов, среди которых важнейшее место занимает опасное для жизни осложнение - рабдомиолиз. Хотя вероятность его развития невысока и колеблется в пределах от 0,44 до 0,54 случаев на 10000 человек в год, жалобы на миалгию предъявляют приблизительно 5-7% пациентов, принимающих статины.

Несмотря на большое количество исследовательских работ, посвященных данной теме, до сих пор точно не известно, от чего зависит степень выраженности статиновой миопатии, а также не ясными остаются причины ее возникновения. Важным является тот факт, что данный побочный эффект очень часто отмечается у физически активных людей и отличается большой гетерогенностью симптомов.

Для своевременной диагностики данного побочного эффекта необходимы четкие диагностические признаки статин-индуцированного поражения мышц, в том числе биохимические, так как повышение активности КФК в крови при данной миопатии не наблюдается не всегда.

Поэтому актуальность темы исследования Виноградовой Е.В. не вызывает сомнения, так как оно направлено на выяснение роли метаболических сдвигов в формировании статиновой миопатии в эксперименте и трансляции этих данных в клинику для внедрения дополнительных лабораторных критериев диагностики этого состояния.

### **Достоверность и новизна исследования, полученных автором результатов**

В диссертационной работе Виноградовой Елены Викторовны проведены лабораторные биохимические исследования на базе лаборатории кафедры общей и клинической биохимии №1 ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, направленные на изучение газотранспортной функции крови и продуктов углеводного обмена в эритроцитах и мышечной ткани (количественное определение пировиноградной кислоты, лактата, 2,3-дифосфоглицерата в эритроцитах), а также на определение активности ферментов антиоксидантной защиты в мышцах и эритроцитах лабораторных животных (супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, глутатионпероксидазы (ГПО), глутатионредуктазы (ГР), концентрации восстановленного глутатиона (GSH).

Для проведения исследования использовался биологический материал (мышечная ткань и кровь) лабораторных животных – беспородных крыс.

Исследования по определению содержания белков титина и небулина методом ДСН-гель-электрофореза проводились на базе лаборатории структуры и функций мышечных белков ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, город Пущино. Гистологическое исследование микропрепаратов мышечной ткани - в Центральной научно-

исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России. Для статистической обработки полученного материала использовали программы STATISTICA 10.0 и Excel Microsoft. Исходя из вышеизложенного, достоверность и научная новизна полученных в результате диссертационного исследования результатов совершенно очевидны.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Диссертационная работа Виноградовой Е.В. выполнена на высоком методическом уровне, в соответствии с общепринятыми этическими и научными принципами.

При проведении диссертационного исследования использовалось современное лабораторное оборудование и приборы, в соответствии с поставленными задачами. Исследование проведено на достаточном для выявления статистических закономерностей объеме выборок экспериментальных данных ( $n=140$ ). Результаты обработаны традиционными методами вариационной статистики. Выводы и основные положения основаны на результатах проведенных исследований, логичны и достаточно обоснованы.

Работа широко апробирована, по теме диссертации опубликовано 20 научных статей, в том числе - 5 в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, получено 2 патента на изобретение: «Способ диагностики миопатии в эксперименте» (№2625743 18.07.2017г.) и «Способ моделирования миопатии» (№2632624 от 06.10.2017г.).

Таким образом, обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации не вызывают сомнений.

## **Значимость для науки и практики полученных автором результатов, рекомендации по их использованию**

Результаты диссертационного исследования имеют высокое научное и практическое значение. Они могут быть применены кардиологами, терапевтами, клиническими фармакологами. Представленная диссертационная работа существенно расширила существующие представления о механизмах, лежащих в основе статиновой миопатии.

Практические рекомендации, изложенные в диссертации обосновывают новые методы диагностики статин-индуцированной миопатии, в том числе биохимические. Ценным с практической точки зрения является то, что автором разработаны: способ моделирования миопатии и способ диагностики миопатии в эксперименте, которые защищены Российским патентом.

Полученные в ходе диссертационного исследования результаты открывают перспективы дальнейшего поиска надежных и информативных методов ранней диагностики статиновой миопатии, в том числе и разработка тест-систем, а также введения в схемы лечения наряду со статинами, лекарственные препараты, которые нивелируют их негативное влияние на мышцы.

## **Содержание, степень завершенности и качество оформления диссертации**

Диссертация построена по традиционному плану, изложена на 138 страницах машинописного текста, проиллюстрирована 15 таблицами и 26 рисунками, и имеет традиционную структуру: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, 4 главы собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации и списки литературы, сокращений и условных обозначений.

*Введение:* кратко излагается актуальность темы исследования, цель, задачи, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, основные положения, выносимые на защиту и т.д.

*Глава 1 «Обзор литературы»:* написана с привлечением большого количества литературных источников, как отечественных, так и зарубежных авторов. Диссертантом проанализированы уже имеющиеся данные литературы по следующим вопросам: дислипидемии как фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний; метаболические сдвиги при дислипидемии; применение статинов в клинической практике; структурно-функциональные изменения в мышечной ткани при миопатиях лекарственного генеза.

*Глава 2 «Материалы и методы исследования»:* диссертантом в доступной форме изложены дизайн исследования, материалы и методы исследования: определение структуры белков мышечной ткани, газотранспортной функции крови и продуктов углеводного обмена, активности ферментов антиоксидантной защиты в мышечной ткани и эритроцитах, гистологическое исследование микропрепаратов мышечной ткани лабораторных животных.

*Глава 3:* представляет результаты изменения количества и соотношения титина и небулина мышечной ткани у животных с гиперхолестеринемией до и после длительного приема статинов.

*Глава 4:* отражает результаты метаболических изменений в мышцах интактных животных и животных с индуцированной гиперхолестеринемией на фоне длительного применения симвастатина.

*Глава 5:* посвящена изложению результатов изменения метаболических процессов в эритроцитах лабораторных животных до и после длительного введения симвастатина.

*Глава 6:* описывает корреляционные взаимоотношения информативных показателей углеводно-энергетического обмена, антиоксидантной защиты и структурных белков мышечной ткани.

*Заключение:* посвящено обсуждению полученных результатов, здесь приводятся основные положения диссертации, на основании которых, автор делает выводы и обосновывает практические рекомендации.

*Выводы:* отличаются обоснованностью, логично вытекают из цели, поставленных задач, полученных результатов и их обсуждения. В *практических рекомендациях* детально изложены предложения по использованию дополнительных лабораторных критериев для диагностики статин-индуцированной миопатии, также приведены дальнейшие перспективы разработки данной темы исследования.

*Список литературы:* содержит 210 литературных источников, из них 105 отечественных и 105 зарубежных авторов.

Диссертация написана в хорошем литературном стиле, профессионально грамотным языком и дает четкое представление о выполненном диссертационном исследовании. Автореферат в полной мере соответствует содержанию диссертации.

### **Замечания по диссертации**

Существенные замечания по диссертации отсутствуют. В тексте иногда встречаются опечатки и стилистические погрешности, явно неудачные ссылки на литературные источники, кроме того в главы, относящихся к результатам исследований включены достаточно длинные фрагменты с чисто теоретическим содержанием. Речь идет о страницах 58-60 и 61-63 на которых изложены биохимические представления о свободнорадикальных процессах и системе глутатиона, однако все это не оказывает существенного влияния на восприятие текста в целом, и не уменьшают научной и практической значимости проведенного исследования.

При изучении текста диссертации и автореферата возникли следующие вопросы, которые носят в основном дискуссионный или уточняющий характер и не влияют на в целом позитивную оценку работы:

1. Согласно дизайну исследования животным вводили Зокор (симвастатин) перорально в течение 2 месяцев в дозе 0,0012 мг/100г массы крыс. Поясните пожалуйста: «Почему Вы выбрали именно эту дозу и продолжительность терапии?»
2. Почему для моделирования атеросклероза Вы выбрали таких животных как крысы, в то время как известно, что грызуны (мыши и крысы) отличаются от людей по многим аспектам метаболизма липидов? Например, около 70% холестерина у людей происходит из синтеза *in vivo*, а остальная часть поступает с пищей, тогда как, у грызунов, напротив, большая часть холестерина экзогенного происхождения, а наименьшая синтезируется в организме [Shiomi M., Koike T., Ito T. Contribution of the WHHL rabbit, an animal model of familial hypercholesterolemia, to elucidation of the anti-atherosclerotic effects of statins. *Atherosclerosis*. 2013, vol. 231. no. 1. P.39-47]. В плазме крови мышей и крыс преобладающим липопротеином является ЛПВП, тогда как у людей и кроликов – ЛПНП. Способность мышей и крыс образовывать желчную кислоту из холестерина и, соответственно, способствовать снижению холестерина, значительно выше, чем у человека [Getz G.S., Reardon C.A. Animal models of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012. vol. 32. no. 5. P. 1104-1115].
3. На рис.6 имеются явные отличия в интенсивности полосок тяжелых цепей миозина, что несомненно повлияет на количественную оценку фрагментов и изоформ титина и небулина объясните с чем это связано и как достигалась стандартизация.
4. Стандартным лабораторным показателем для характеристики углеводного обмена является отношение лактата к пирувату. В базе данных PubMed имеется 31544 опубликованных работы, в которых исследовался этот показатель в различных органах и тканях у животных и человека. Более того есть общепринятое значение этого показателя не менее 10, а при гипокии, ацидозах и другой патологии он обычно выше

20. В вашем исследовании это соотношение в мышцах интактных крыс всего 1,76, а в эритроцитах всего 2,2. Хотелось бы узнать, чем Вы объясняете столь низкое соотношение лактат:пируват у крыс интактной группы, также непонятен и нуждается в объяснении механизм снижения пирувата в мышцах крыс группы сравнения почти в 6 раз (Таблица 3 диссертации)?

5. Уровни лактата и пирувата в мышцах и эритроцитах приводимые в диссертации представляются многократно превышающими литературные данные, а именно концентрация лактата в мышцах крыс в вашем исследовании 3,96 мкмоль/мг белка, в то время как например в работе опубликованной в Canadian Journal of Biochemistry 1 November 1971 <https://doi.org/10.1139/o71-172> Naranjan S. Dhalla, Margaret Fedelesova, and Ivan Toffler уровень лактата 1,22 мкмоль/г мышцы, примерно этого же уровня значения лактата мы нашли еще в нескольких исследованиях. Пожалуйста приведите 1,2 печатные работы, в которых имеются сопоставимые с вашими данные о содержании лактата и пирувата.

### **Заключение**

Диссертационная работа Виноградовой Елены Викторовны «Молекулярные механизмы статиновой миопатии» является завершенным квалификационным научным исследованием, выполненным лично автором, и содержит новые достоверные данные, имеющие теоретическое и практическое значение как для фундаментальной, так и для практической медицины, в первую очередь для кардиологии, клинической фармакологии, клинической биохимии. Результаты данного диссертационного исследования могут быть использованы для разработки новых технологий профилактики и метаболической коррекции осложнений, вызванных приёмом статинов.

По своей актуальности, научной новизне и практической значимости полученных результатов диссертационная работа Виноградовой Е.В.



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, предъявляемых к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

Заведующий кафедрой теоретической  
биохимии с курсом клинической биохимии  
федерального государственного  
бюджетного образовательного учреждения  
высшего образования «Волгоградский  
государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения  
Российской Федерации  
д.м.н., профессор

О.В.Островский

27.11.2020



400131, Россия, г. Волгоград, площадь Павших Борцов, д. 1, телефон: (8442) 38-50-05, mob. +79272518317, email: [ol.ostr@gmail.com](mailto:ol.ostr@gmail.com)

## СВЕДЕНИЯ

об официальном оппоненте диссертации Виноградовой Елены Викторовны «Молекулярные механизмы статиновой миопатии» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.01.04 – биохимия, представленной для защиты в диссертационный совет Д 208.038.02, 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)26273)

<b>№</b>	<b>Фамилия Имя Отчество рецензента</b>	<b>Год рождения, гражданство</b>	<b>Место основной работы (название организации, ведомство, город, занимаемая должность)</b>	<b>Учёная степень (шифр специальности, по которой присуждена ученая степень в соответствии с действующей Номенклатурой специальностей работников, № свидетельства</b>	<b>Учёное звание</b>	<b>Шифр специальности (отрасли науки) в диссертационном совете (с указанием отраслей; соответствующего периода; отраслей и сфер деятельности)</b>
1	2	3	4	5	6	7
1	Островский Олег Владимирович	1959, Российская Федерация	федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет»	доктор медицинских наук, 14.03.06 - фармакология. клиническая фармакология	Профессор 03.01.04 Биохимия	14.03.06 – фармакология. клиническая фармакология

			<p>Министерства здравоохранения Российской Федерации (<a href="#">ФГБОУ ВО ВолгГМУ</a> Минздрава России), г. Волгоград, заведующий кафедрой теоретической биохимии с курсом клинической биохимии</p>			
<p>а) Перечень научных публикаций в изданиях, индексируемых в международных цитатно-аналитических базах данных Web of Science, Scopus, а также 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. Age-related changes in the functional indices of cardiac mitochondria in chronic alcohol intoxication in rats // Popova T.A., Prokofiev I.I., Khusainova G.Kh., Perfilova V.N., Kustova M.V., Tyurenkov I.N., Bagmetova V.V., Ostrovsky O.V., Dudchenko G.P. / Advances in Gerontology. 2019. Т. 9. № 3. С. 274-282. Импакт-фактор – 0,350</li> <li>2. Стресспротекторное действие нового производного глутаминовой кислоты при блокаде нейрональной по-синтазы // Тюренков И.Н., Попова Т.А., Перфилова В.Н., Прокофьев И.И., Борисов А.В., Кустова М.В., Зайпуллаев Г.И., Островский О.В. / Биомедицинская химия. 2017. Т. 63. № 1. С. 47-55. Импакт-фактор – 1,266</li> <li>3. Влияние фенибута и нового производного глутаминовой кислоты глүфимета на дыхание митохондрий клеток сердца и головного мозга стрессированных животных на фоне блокады индуцибельной по-синтазы // Перфилова В.Н., Попова Т.А., Прокофьев И.И., Мокроусов И.С., Островский О.В., Тюренков И.Н. / Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2017. Т. 163. № 2. С. 190-193. Импакт-фактор – 1.002</li> <li>4. Влияние сулодексида на функциональное состояние митохондрий плаценты самок крыс с экспериментальной преэклампсией // Попова Т.А., Перфилова В.Н., Жакупова Г.А., Веровский В.Е., Островский О.В., Тюренков И.Н. / Биомедицинская химия. 2016. Т. 62. № 5. С. 572-576. Импакт-фактор – 1,266</li> </ol>			

<p>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 библиографической базы данных научных публикаций российских ученых – Российскому индексу научного цитирования (РИНЦ)</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Коррекция производными нейроактивных аминокислот алкогольных повреждений митохондрий клеток сердца и головного мозга / Попова Т.А., Хусаинова Г.Х., Прокофьев И.И., Перфилова В.Н., Тюренков И.Н., Багметова В.В., Малюженко И.В., Ганзикова Н.С., Дудченко Г.П., Островский О.В. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2020. Т. 169. № 2. С. 176-181. Импакт-фактор – 1.002</li> <li>2. Возрастные изменения функциональных показателей митохондрий клеток сердца у крыс при хронической алкогольной интоксикации / Попова Т.А., Прокофьев И.И., Хусаинова Г.Х., Перфилова В.Н., Кустова М.В., Тюренков И.Н., Багметова В.В., Островский О.В., Дудченко Г.П. // Успехи геронтологии. 2019. Т. 32. № 1-2. С. 29-37. Импакт-фактор - 0,767.</li> <li>3. Сравнительная оценка изменений функциональных показателей митохондрии клеток головного мозга крыс разного пола и возраста при хронической интоксикации 5- и 10%-ным раствором этанола / Попова Т.А., Хусаинова Г.Х., Перфилова В.Н., Мокроусов И.С., Тюренков И.Н., Багметова В.В., Малюженко И.В., Ганзикова Н.С., Островский О.В., Дудченко Г.П. // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2018. Т. 104. № 3. С. 312-326. Импакт-фактор – 0,261</li> <li>4. Влияние глүфимета на оксидантную систему, дыхание митохондрий сердца и головного мозга, артериальное давление и показатели системы гемостаза у стрессированных животных // Перфилова В.Н., Попова Т.А., Прокофьев И.И., Островский О.В., Музыко Е.А., Тюренков И.Н. / Экспериментальная и клиническая фармакология. 2017. Т. 80. № 3. С. 18-25. Импакт-фактор - 0,372</li> <li>5. Effect of phenibut and glufimet, a novel glutamic acid derivative, on respiration of heart and brain mitochondria from animals exposed to stress against the background of inducible no-synthase blockade / Perfilova V.N., Prokofiev I.I., Mokrousov I.S., Tyurenkov I.N., Popova T.A., Ostrovskii O.V. // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2017. Т. 163. № 2. С. 226-229. Импакт-фактор – 1.002</li> </ol>
<p>в) Общее число ссылок на публикации рецензента в РИНЦ</p>	<p>Общее число цитирований в РИНЦ - 1215 Индекс Хирша - 17</p>

г) Участие с приглашенными докладами на международных конференциях (указать тему доклада, а также название, дату и место проведения конференции)	
--	--

Заведующий кафедрой теоретической биохимии с курсом клинической биохимии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
доктор медицинских наук, профессор

Островский Олег Владимирович

14.10.2020

