

«УТВЕРЖДАЮ»

проректор по научно-исследовательской работе
федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Ярославский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Д.М.Н., доцент

Староверов Илья Николаевич



2022 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» на диссертационную работу Зоиной Владлены Игоревны «Разработка методики количественного определения и ВЭЖХ-анализ убихинола и убихинона в плазме крови больных сердечно-сосудистыми заболеваниями при назначении отечественного лекарственного средства Кудесан®» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальностям 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия и 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Актуальность темы выполненной работы

В связи с усилением влияния неблагоприятных факторов окружающей среды, негативно влияющих на организм человека, усиливаются процессы свободнорадикального окисления. В связи с этим, актуальным является изучение биорегуляторов, отвечающих за координацию защитно-приспособительных функций организма. CoQ10 является одним из центральных звеньев

антиоксидантной системы организма. Его особенность состоит в том, что, существуя в окисленной (убихинон) и восстановленной (убихинол) форме, CoQ10 способен регенерировать *in vivo* из восстановленной формы в окисленную и обратно. Основной функцией CoQ10 в организме является синтез аденозинтрифосфата в дыхательной цепи митохондрий. Также, CoQ10 принимает участие в реакциях окислительного фосфорилирования и «защищает» плазматическую мембрану от пероксидного окисления липидов. Основной формой, проявляющей антиоксидантную активность, является его восстановленная форма убихинол. В организме здорового человека соотношение убихинол и убихинон составляет 95 к 5, соответственно. Для количественного определения CoQ10 в плазме крови применялись различные методы: высокоэффективная жидкостная хроматография с ультрафиолетовым, электрохимическим, масс-спектрометрическим и другими детекторами. При этом анализ в биологических жидкостях затруднен вследствие гидрофобности, высокой реакционной способности к окислению и относительно небольшим содержанием. В связи с этим в большинстве исследований определяют либо общий CoQ10, восстанавливая убихинон до убихинола или окисляя убихинол до убихинона. В исследованиях по одновременному определению убихинона и убихинола часто не определяют эффект матрицы или не добавляют стабилизатор, таким образом, невозможно определить, какая доля восстановленной формы CoQ10 превращается в окисленную во время пробоподготовки, а также во время проведения самого анализа. Таким образом, необходимость разработки простой и селективной методики определения убихинона и убихинола является актуальной. В настоящее время в доступной литературе можно найти данные по содержанию CoQ10 и его редокс-статусу только у здоровых лиц. Однако, практически отсутствуют данные о концентрации убихинона, убихинола и общего CoQ10 у пациентов с сердечно-сосудистыми патологиями, а также у пациентов, принимающих препараты из различных фармакологических групп. В связи с этим, диссертационная работа Зозиной В.И. является актуальной и имеет высокое

теоретическое и практическое значение.

Связь работы с крупными научными темами

Диссертационная работа выполнена в соответствии с фрагментом разрабатываемой комплексной темы «Разработка и совершенствование клиничко-фармакологических технологий персонализированной медицины для повышения эффективности и безопасности фармакотерапии социально-значимых заболеваний» кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского.

Новизна исследования и полученных результатов

В ходе диссертационного исследования были разработаны методики количественного определения общего CoQ10 при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографии со спектрофотометрическим детектированием, а также окисленной и восстановленной форм CoQ10, и общего CoQ10 при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. Разработанная методика с масс-спектрометрическим детектированием позволила диссертанту впервые определить концентрации убихинона, убихинола, общего CoQ10 и его редокс-статус у больных со следующими сердечно-сосудистыми заболеваниями: артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца и хроническая сердечная недостаточность. Впервые у больных II-III функциональным классом хронической сердечной недостаточности было изучено влияние антиоксиданта этоксида на эндогенную концентрацию убихинона, убихинола, общего CoQ10 и его редокс-статус. Также, у этой же группы больных проанализировано воздействие блокатора кальциевого канала амлодипина и статина аторвастатина на эндогенную концентрацию убихинона, убихинола, общего CoQ10 и его редокс-статус. Впервые установлены концентрации убихинола, убихинона, общего

CoQ10 и его редокс-статус в плазме крови больных 0-I функциональным классом хронической сердечной недостаточности, которые принимают в составе стандартной терапии кудесан.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Научная значимость диссертационной работы заключается прежде всего в разработке новой методики количественного определения убихинона, убихинола и общего CoQ10, а также применении альтернативного подхода к количественному анализу убихинола, который заключается в вычитании концентрации убихинона из концентрации общего CoQ10. В дальнейшем данную методику можно будет применять как для фармакокинетических исследований препаратов CoQ10 в плазме крови, так и для контроля качества лекарств.

Концентрации убихинона, убихинола, CoQ10 и его редокс-статус у больных сердечно-сосудистыми заболеваниями, изученные в диссертационном исследовании, позволяют оценить влияние препаратов различных групп на эндогенный уровень убихинона, убихинола и CoQ10, что при дальнейшем изучении в перспективе может внести вклад в корректировку назначаемой фармакотерапии для таких больных. Помимо этого, изученное влияние кудесана на концентрации убихинона, убихинола, CoQ10 и его редокс-статус у больных сердечно-сосудистыми заболеваниями может утвердить его назначение у больных с низкими уровнями CoQ10 или с низким редокс-статусом CoQ10.

Личный вклад автора

Автором обоснована актуальность, описана степень разработанности темы, сформулирована цель и поставлены задачи исследования, разработана схема проведения исследования. Кроме этого, автором осуществлена разработка методик количественного определения общего CoQ10, убихинона и убихинола методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и проведена валидация

данных методик согласно общепринятым параметрам. Автором также проведено исследование влияния различных лекарственных средств (аторвастатина, амлодипина, этоксидола и кудесана) на концентрации общего CoQ10, убихинона и убихинола, а также редокс-статус CoQ10. Результаты были обобщены лично автором при помощи адекватных статистических методов. Таким образом, вклад автора является определяющим.

Рекомендации по использованию результатов работы и выводов диссертации

Методики, разработанные в ходе диссертационного исследования внедрены в работу лаборатории №51 Фармакологии и фармацевтической разработки Федеральное государственное бюджетное учреждение Государственный научный центр “Институт иммунологии” Федерального медико-биологического агентства.

Результаты диссертационной работы и определение концентраций убихинона, убихинола, общего CoQ10 и его редокс-статуса могут быть внедрены в рабочую практику кардиологических отделений с назначением данного исследования больным сердечно-сосудистыми заболеваниями для наблюдения за данными параметрами и в случае необходимости корректировки проводимой фармакотерапии.

Публикации

Основные положения и результаты выполненного диссертационного исследования освещены в 13 научных работах, из них 2 – в изданиях, рекомендуемых ВАК при Минобрнауки России/Перечнем федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет

имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), 7 – в изданиях Международных база данных (Scopus, Web of Science, PubMed, Chemical Abstracts), 1 статья в ином рецензируемом издании и 3 публикации в сборниках конференций.

Оценка структуры и содержание диссертации

Диссертация построена по традиционному плану, состоит из введения, обзора литературы, раздела, включающего материалы и методы исследования, трех глав, посвященных результатам собственного исследования, главы обсуждения результатов, общих выводов и практических рекомендаций. Список литературы включает 198 источников, из них 163 работы зарубежных авторов. В диссертацию включены 40 рисунков и 46 таблиц.

В разделе Введение представлена актуальность темы, сформулированы цели и задачи исследования, научная новизна, а также теоретическая и практическая значимость работы.

В обзоре литературы проведен глубокий анализ современных отечественных и зарубежных источников о роли CoQ10 в организме, затронута тема редокс-статуса, изучены доступные варианты методов количественного определения CoQ10 в плазме крови с различными типами детекторов, приведены данные по вариантам экстракции и пробоподготовки CoQ10. Автор также отобрал данные по роли CoQ10 в различных патологиях: сердечно-сосудистых, эндокринных, онкологических, нейродегенеративных. Помимо этого, представлено влияние некоторых изученных лекарственных средств на эндогенные концентрации CoQ10.

В главе материалы и методы приведены средства измерений, устройств, перечень используемых реактивов и описаны приготовления модельных смесей. Представлены формулы расчета процентного содержания убихинона и убихинола в плазме крови, а также редокс-статуса CoQ10. В главе приведен

дизайн исследования, иллюстрируемый четырьмя таблицами, четко описывающие разделение пациентов на группы, принимаемую терапию и количество проведенных исследований. Конкретно описаны методы статистической обработки, а также критерии для параметрических и непараметрических методов анализа.

Третья глава описывает результаты собственного исследования и включает в себя разработку методик количественного анализа убихинола, убихинона и общего CoQ10 методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с применением различных способов детектирования. Автором приведены все этапы исследования: от подбора условий хроматографического разделения убихинона и убихинола до валидации методик со спектрофотометрическим и масс-спектрометрическим детекторами.

В четвертой главе представлены результаты изучения концентраций общего CoQ10, его редокс-статуса, убихинона и убихинола у больных сердечно-сосудистыми заболеваниями, принимающих препараты из различных групп. Определено влияние амлодипина, аторвастатина и этоксидола на концентрации изучаемых эндогенных веществ.

Пятая глава отражает изучение влияния препарата кудесана концентрации убихинона и убихинола, общего CoQ10 и его редокс-статус у больных, принимающих стандартную терапию и с дополнительным назначением препарата кудесан, что позволяет оценить его значимость в изменении редокс-статуса CoQ10.

В главе обсуждение результатов приводится краткое обсуждение и обобщение всех полученных результатов, приводятся параллели разработанных методик определения убихинона, убихинола и общего CoQ10, а также обобщается влияние изученных препаратов на уровни убихинона, убихинола, CoQ10 и его редокс-статус.

Выводы и практические рекомендации полностью аргументированы, а также соответствуют поставленным задачам, логично вытекают из результатов и

обладают высокой научной значимостью. Автореферат полностью отражает основные положения диссертационной работы.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Несомненным достоинством работы является разработанный альтернативный подход к количественному определению убихинола, а также тот факт, что автор не только разработал методики определения убихинона и убихинола, но и применил их у пациентов, принимающих лекарственные средства из различных фармакологических групп. Обширный иллюстративный материал дополняет и облегчает понимание всех этапов диссертационного исследования: от разработки дизайна исследования до полученных результатов. Существенных недостатков и принципиальных замечаний в содержании и оформлении диссертации не выявлено.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Зозиной Владлены Игоревны на тему: «Разработка методики количественного определения и ВЭЖХ-анализ убихинола и убихинона в плазме крови больных сердечно-сосудистыми заболеваниями при назначении отечественного лекарственного средства Кудесан®» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальностям 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия и 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология является научно-квалификационной работой, в которой решены задачи по разработке новых специфичных и селективных методик определения окисленной и восстановленной формы CoQ10 методом ВЭЖХ и их дальнейшее применение для оценки влияния лекарственных средств на уровень оксидативного стресса у больных, имеющие существенное значение как для фармацевтической химии, так и для клинической фармакологии, что соответствует требованиям п. 16 Положения о присуждении

ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом ректора от 06.06.2022 г. № 0692/Р, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Зозина Владлена Игоревна, заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальностям - 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия и 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Отзыв на диссертацию Зозиной В.И. заслушан и утвержден на совместном заседании кафедры химии с курсом фармацевтической и токсикологической химии и кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации 02 декабря 2022 г., протокол №4.

Доцент, заведующий курсом фармацевтической и токсикологической химии кафедры химии с курсом фармацевтической и токсикологической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кандидат фармацевтических наук (3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия)

Анна Владимировна Смирнова

Подпись к.ф.н. А.В. Смирновой заверяю
Ученый секретарь ФГБОУ ВО ЯГМУ
Минздрава России, д.м.н., профессор



И.М. Мельникова

« 06 » 12 2022 г.

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес: 150000, г. Ярославль, ул. Революционная 5

Тел.: (4852) 30-56-41

Адрес электронной почты: rector@ysmu.ru