

ОТЗЫВ

официального оппонента Семиной И.И. на диссертационную работу Шаповал Натальи Сергеевны «Оценка влияния коэнзима Q10 на эндотелиальные компоненты гематоэнцефалического барьера в эксперименте», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.6.6. Фармакология, клиническая фармакология

Актуальность темы

В составе нейроваскулярной единицы церебральные эндотелиоциты выступают основой для формирования гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) сосудов головного мозга. Установлено, что нарушение нормального функционирования клеток церебрального эндотелия приводит к развитию нейровоспаления и нейродегенеративных заболеваний, в том числе болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона и болезни Хантингтона.

Коэнзим Q₁₀, в роли неотъемлемого компонента внутренней мембраны митохондрий, принимает участие в транспортной цепочке окислительно-восстановительных процессов, в процессе обмена энергии, в реакции окислительного фосфорилирования в дыхательной цепи митохондрий клеток. Коэнзим Q₁₀ обладает также нейропротекторной активностью. Лекарственный препарат коэнзим Q₁₀ способен проникать через ГЭБ, но механизм этого процесса не установлен. Известно, что коэнзим Q₁₀ обладает низкой биодоступностью при приеме внутрь, а форм коэнзима Q₁₀, предназначенных для внутривенного введения и способных решить вопрос быстрой доставки высокой концентрации вещества в головной мозг, на сегодняшний день на фармацевтическом рынке не зарегистрировано.

Таким образом, тема диссертационной работы Шаповал Н.С. «Оценка влияния коэнзима Q₁₀ на эндотелиальные компоненты гематоэнцефалического барьера в эксперименте» является актуальной и перспективной в нейрофармакологии, открывающей новые возможности для решения вопроса управления проницаемостью ГЭБ, предотвращения развития нейровоспаления и нейродегенерации.

Научная новизна исследования и полученных результатов

Автором впервые показана вовлеченность коэнзима Q_{10} в процессы регуляции проницаемости на клетках модели ГЭБ *in vitro* и установлена разнонаправленность действия при использовании в различных концентрациях. Впервые показана способность $CoQ_{10}H_2$ снижать количество Pac-1 -иммунопозитивных клеток в модели ГЭБ *in vitro*.

Впервые исследовано действие $CoQ_{10}H_2$ 1% раствора для внутривенного введения в дозе 30 мг/кг на крысах и выявлено, что после его однократного введения увеличивается количество иммунопозитивных клеток CD31 в коре и миндалине, увеличивается количество иммунопозитивных клеток Pgp в гиппокампе и снижается в миндалине, увеличивается количество иммунопозитивных клеток CLDN5 в коре и снижается в гиппокампе и миндалине и снижается интенсивность апоптоза в энторинальной коре, гиппокампе и миндалине головного мозга крыс без модели патологических нарушений.

Научно-практическая значимость исследования

Полученные автором результаты дополняют и расширяют имеющиеся сведения о коэнзиме Q_{10} , в частности, о действии 1% водного раствора солюбилизированной субстанции $CoQ_{10}H_2$ для внутривенного введения на проницаемость и эндотелиальные компоненты ГЭБ. Эти данные помогут оценить действие коэнзима Q_{10} на структуры головного мозга, в частности, на ГЭБ и приблизиться к пониманию механизма действия препарата и его способности управлять проницаемостью ГЭБ, что следует учитывать при дальнейших доклинических и клинических исследованиях препарата для профилактики и терапии нейровоспаления и нейродегенеративных заболеваний.

Обоснованность и достоверность положений и выводов

Достаточный объем хорошо спланированных исследований, использование современных экспериментальных методов, а также детальный анализ полученных результатов позволяют утверждать, что выводы и положения диссертационной работы Шаповал Н.С. экспериментально обоснованы. Фактический материал подвергнут адекватной статистической обработке. Вышеизложенное позволяет отметить достаточную для кандидатской диссертации методическую, материальную и математическую обеспеченность работы и делает обоснованными и убедительными научные положения и выводы.

Структура и содержание работы

Диссертация Шаповал Н.С. изложена на 118 страницах машинописного текста, включающих введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследования и их обсуждение, заключение, список литературы (144 источника, из них 124 на иностранном языке) и благодарности. Работа также содержит 2 таблицы, 20 рисунков.

Во введении диссертационной работы автором четко сформулированы актуальность, цель, задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы и основные положения, выносимые на защиту.

В обзоре литературы, изложенном на 18 страницах машинописного текста, отражены современные сведения о роли коэнзима Q_{10} в метаболизме клетки и митохондрий церебральных эндотелиоцитов, как потенциальной мишени нейропротекторного действия коэнзима Q_{10} .

Во второй главе описаны материалы и методы диссертационного исследования. Подробно изложены методики получения клеточных культур и формирования модели ГЭБ *in vitro*, методы иммуногистохимического анализа и фармакокинетические методы (высокоэффективная жидкостная

хроматография (ВЭЖХ) с электрохимическим детектированием), характеризующиеся адекватной полнотой и высокой информативностью.

В третьей главе представлены результаты исследования, доказывающие, что трансэндотелиальное электрическое сопротивление, являясь интегральным показателем целостности ГЭБ, подтверждает изменения проницаемости ГЭБ при воздействии CoQ_{10} и $\text{CoQ}_{10}\text{H}_2$. При этом действие $\text{CoQ}_{10}\text{H}_2$ является дозозависимым. Также установлено, что CoQ_{10} и $\text{CoQ}_{10}\text{H}_2$, снижая количество Rac-1 -иммунопозитивных клеток, способствует укреплению барьерных функций и снижению апоптоза.

Редокс-статус CoQ_{10} после однократного внутривенного введения $\text{CoQ}_{10}\text{H}_2$ в дозе 30 мг/кг в мозге оставался на одном уровне, а различия редокс-статуса в мозге и плазме крови свидетельствовали о частичном окислении $\text{CoQ}_{10}\text{H}_2$ при поступлении из крови в мозг до уровня их эндогенного тканевого редокс-баланса. Это подтверждает включение препарата в локальные окислительно-восстановительные процессы и доказывает возможность быстрого и эффективного повышения антиоксидантного резерва мозга при внутривенном введении $\text{CoQ}_{10}\text{H}_2$.

Поскольку CD31 рассматривается как прогностический маркер ангиогенеза, действие $\text{CoQ}_{10}\text{H}_2$ в течение 24 ч в энторинальной коре и 2 ч в миндалине свидетельствует об активации процессов неоангиогенеза, ассоциированных с барьерогенезом. И поскольку CLDN5 относится к маркерам проницаемости эндотелиальных клеток, показано, что в энторинальной коре через 96 ч $\text{CoQ}_{10}\text{H}_2$ запускает процессы неоангиогенеза, ассоциированные с барьерогенезом и продолжаются до 192 ч, но при этом в гиппокампе и миндалине головного мозга спустя 192 ч после введения $\text{CoQ}_{10}\text{H}_2$ можно прогнозировать снижение структурной целостности ГЭБ. Как известно, низкая биодоступность $\text{CoQ}_{10}\text{H}_2$ частично связана с его взаимодействием с Pgp, участвующим в выведении препарата и увеличение экспрессии Pgp в гиппокампе через 96 ч говорит о том, что изменение экспрессии маркера имеет индуцибельный характер.

Проведен анализ результатов выполненного исследования, их сравнение с литературными данными, с последующим подведением итогов.

Выводы и практические рекомендации непосредственно вытекают из полученных данных, обоснованы, строго аргументированы, соответствуют целям и задачам диссертационного исследования и положениям, выносимым на защиту.

Автореферат отражает основные положения диссертации и оформлен в соответствии с современными требованиями.

Результаты исследований опубликованы в 7 печатных работах, включая 5 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ и входящих в базы Web of Science, Scopus, а также 2 тезисах в материалах российских и международных конференций.

Принципиальных замечаний к диссертационному исследованию нет. Хотелось бы услышать мнение автора по следующим вопросам:

1. При патологических состояниях мозга - нейродегенеративных процессах, ишемическом инсульте – проницаемость ГЭБ изменяется. Будет ли характер влияния коэнзима Q10 на эндотелиальные компоненты ГЭБ в этом случае иным?
2. Проводилось ли сопоставление характера влияния коэнзима Q10 на проницаемость ГЭБ в экспериментах *in vitro* и *in vivo*?
3. Почему в экспериментах *in vivo* была использована лишь одна доза убихинола (CoQ10H₂) 30 мг/кг, в отличие от экспериментов *in vitro*, где была проведена оценка влияния на проницаемость ГЭБ нескольких концентраций. Чем обусловлен выбор именно этой дозы?

Заключение

Диссертационная работа Шаповал Натальи Сергеевны на тему «Оценка влияния коэнзима Q10 на эндотелиальные компоненты

гематоэнцефалического барьера в эксперименте» является завершенной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача – изучение механизма действия коэнзима Q_{10} на проницаемость ГЭБ, что имеет важное значение для фармакологии и клинической фармакологии.

По актуальности темы, научной новизне, методологии и научно-практической значимости диссертационная работа полностью соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в редакции постановления Правительства №426 от 20.03.2021 г.) предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.6.6. Фармакология, клиническая фармакология.

профессор кафедры фармакологии,
заведующая центральной научно-
исследовательской Лабораторией
ФГБОУ ВО «Казанский государственный
медицинский университет»,
доктор медицинских наук, профессор

Семина Ирина Ивановна

Подпись Семиной И.И. заверяю
Ученый секретарь
Д.м.н., профессор, заведующий кафедрой
биохимии и клинической лабораторной
диагностики ФГБОУ ВО «Казанский
государственный медицинский университет»



Мустафин Ильшат Ганиевич

11.08.2022 г

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения Российской Федерации
Почтовый адрес: 420012, Приволжский федеральный округ, Республика Татарстан, г.Казань, ул. Бутлерова, д.49, тел. +7 (843) 238 83 71, сайт: <https://kazangmu.ru>