

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.183.01 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ «НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ФАРМАКОЛОГИИ ИМЕНИ В.В. ЗАКУСОВА» ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от 15 сентября 2022 г. № 12

О присуждении **Шаповал Наталье Сергеевне**, гражданке РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Оценка влияния коэнзима Q10 на эндотелиальные компоненты гематоэнцефалического барьера в эксперименте» по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология принята к защите 14 апреля 2022 г. (протокол № 08) диссертационным советом 24.1.183.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», 125315 Москва, ул. Балтийская, 8, приказ Минобрнауки РФ № 105/нк от 11 апреля 2012 года.

Соискатель Шаповал Наталья Сергеевна, дата рождения 31.01.1993.

В 2016 г. окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации по специальности «Фармация».

В 2019 г. окончила очную аспирантуру Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» по направлению подготовки «Фундаментальная медицина», направленность подготовки «Фармакология, клиническая фармакология».

Работает в фармацевтической компании «Авексима» в должности менеджера по фармаконадзору (после окончания аспирантуры с 18.11.2019 г. по настоящее время).

Диссертация выполнена в ФГБОУ ВО «МГУ имени М.В. Ломоносова» на кафедре фармакологии факультета фундаментальной медицины.

Научные руководители:

Медведев Олег Стефанович, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», факультет фундаментальной медицины, кафедра фармакологии, заведующий кафедрой;

Салмина Алла Борисовна, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр неврологии», лаборатория экспериментальной нейробиологии, руководитель лаборатории; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, НИИ молекулярной медицины и патобиохимии, главный научный сотрудник.

Необходимость назначения второго научного руководителя обоснована тем, что исследования *in vitro* на моделях гематоэнцефалического барьера и иммуногистохимический анализ, результаты которых составляют значительную часть диссертационной работы, выполнялись в лаборатории кафедры биологической химии с курсом медицинской, фармацевтической и токсикологической химии и НИИ молекулярной медицины и патобиохимии ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России под руководством Салминой А.Б. (в аттестационное дело включена выписка из протокола заседания Ученого совета ФФМ МГУ с обоснованием назначения двух научных руководителей).

Официальные оппоненты:

Шимановский Николай Львович – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова», заведующий кафедрой молекулярной фармакологии и радиобиологии им. академика П.В. Сергеева;

Семина Ирина Ивановна – доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», профессор кафедры фармакологии, заведующая Центральной научно-исследовательской лабораторией

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России в своем положительном заключении, подписанном Звартау Эдвином Эдуардовичем, доктором медицинских наук, профессором, заведующим кафедрой фармакологии ФГББУ ВО «ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, указала, что диссертация Шаповал Натальи Сергеевны «Оценка влияния коэнзима Q10 на эндотелиальные компоненты гематоэнцефалического барьера в эксперименте», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, является законченной научно-квалификационной работой, содержащей решение актуальной научной задачи – характеристики эффектов коэнзима Q10 в эндотелиоцитах ГЭБ, имеющей важное значение для фармакологии и клинической фармакологии. По своей актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований, практической значимости полученных результатов, публикациям представленная работа полностью соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (с изменениями от 11.09.2021 г. №1539), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Шаповал Наталья Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Соискатель имеет 7 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации – 7, из них работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях – 5, все в журналах, индексируемых базах данных Web of Science, Scopus, и 2 тезисов в материалах российских и международных конференций. 2 статьи в журнале «Химико-фармацевтический журнал» общим объемом 9 страниц; 2 статьи в журнале «Цитология» общим объемом 17 страниц; 1 статья в журнале «Экспериментальная и клиническая фармакология» общим объемом 7 страниц. В статьях представлены собственные результаты, обзор литературы и анализ результатов экспериментальных исследований, выполненных при непосредственном участии автора.

Наиболее значимые работы:

1. Каленикова Е.И., Городецкая Е.А., Оболенская О.Н., Шаповал Н.С., Макаров В.Г., Медведев О.С. Фармакокинетика и тканевое распределение коэнзима Q10 при внутривенном введении в окисленной и восстановленной формах. Химико-фармацевтический журнал. 2021. V. 55, № 7, Р. 3-7.
2. Шаповал Н.С., Малиновская Н.А., Моргун А.В., Салмина А.Б., Оболенская О.Н., Медведева Н.А., Медведев О.С. Влияние убихинола на состояние церебральных эндотелиоцитов в различных структурах головного мозга крыс. Цитология. 2020. Т. 62, № 12, С. 894-902.
3. Шаповал Н.С., Медведев О.С., Медведева Н.А., Моргун А.В., Бойцова Е.Б., Осипова Е.Д., Салмина А.Б. Влияние окисленной и восстановленной форм коэнзима Q10 (убихинона и убихинола) на клетки церебрального эндотелия в модели гематоэнцефалического барьера. Цитология. 2020. Т. 62, № 6, С. 428-437.
4. Шаповал Н.С., Медведев О.С., Моргун А.В., Антонова С.К., Салмина А.Б. Митохондрии клеток церебрального эндотелия как потенциальная мишень для нейропротекторного действия коэнзима Q10. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2020. Т. 83, № 3, С. 40-46.
5. Каленикова Е.И., Городецкая Е.А., Оболенская О.Н., Шаповал Н.С., Макаров В.Г., Медведев О.С. Динамика тканевых уровней и редокс-статус коэнзима Q10 у крыс после внутривенного введения убихинола. Химико-фармацевтический журнал. 2018. Т. 52, № 6, С. 149-152.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

– на диссертацию: заключение организации, в которой выполнялась работа – ФГБОУ ВО «МГУ имени М.В. Ломоносова»: заключение положительное, содержит рекомендацию к защите; отзыв ведущей организации – ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России: отзыв положительный, вопросов и замечаний не содержит.

– на автореферат: из ФГБОУ ВО «Пушкинский государственный естественно-научный институт» от д.м.н., проф., главного научного сотрудника лаборатории экспериментальной биомедицины Яворского А.Н.; из ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России от д.м.н., проф., профессора кафедры фармакологии Венгеровского А.И.; из ФГБОУ ВО «Красноярский государственный

медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, от к.м.н., доцента, заведующей кафедрой фармакологии и фармацевтического консультирования с курсом ПО Веселовой О.Ф.; из БУ ВО «Сургутский государственный университет» от д.м.н., проф., заведующей кафедрой патофизиологии и общей патологии, директора медицинского института Коваленко Л.В.; из ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России от д.м.н., проф., заведующей кафедрой фармакологии Якушевой Е.Н.

В отзывах отмечается актуальность и новизна исследования, высокий методический уровень работы, практическая значимость; все отзывы положительные, критических замечаний нет. Отзывы содержат заключение о соответствии работы критериям кандидатской диссертации; указывается, что автор диссертации достоин присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается профилем выполненной диссертационной работы:

Шимановский Николай Львович – специалист в области молекулярной фармакологии, возглавляет ряд научных исследований, в том числе изучение молекулярных механизмов антиоксидантной, противовоспалительной, цитотоксической активности, разработку новых лекарственных форм, изучение фармакокинетики новых соединений и известных препаратов.

Семина Ирина Ивановна – специалист в области экспериментальной фармакологии центральной нервной системы. Её исследования посвящены поиску путей фармакологической коррекции стрессовых состояний, метаболических нарушений, различных видов гипоксии, а также доклиническим исследованиям новых препаратов.

Работа Шаповал Н.С. посвящена изучению влияния окисленной и восстановленной форм коэнзима Q10 (убихинона и убихинола) на клетки церебрального эндотелия ГЭБ в условиях *in vitro* и клетки церебрального эндотелия в структурах гиппокампа, миндалина и коры головного мозга крыс в экспериментах *in vivo*.

Ведущая организация – ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России. Профилю работы Шаповал Н.С. соответствуют научные исследования кафедры фармакологии.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана научная идея о влиянии коэнзима Q10 на эндотелиальные компоненты гематоэнцефалического барьера;

доказана способность коэнзима Q10, в частности, в его восстановленной форме (убихинол), изменять проницаемость гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) в модели *in vitro* и *in vivo* после однократного внутривенного введения в дозе 30 мг/кг у крыс;

получены новые данные об эффектах 1% растворов убихинона и убихинола для внутривенного введения.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

установлена способность коэнзима Q10 проникать через ГЭБ и накапливаться в мозге в максимальной концентрации в течение 2 часов;

установлено что распределение коэнзима Q10 в различных структурах мозга не одинаково и одной из структур с наибольшим содержанием является гиппокамп;

показано, что коэнзим Q10 обладает нейропротекторным действием, играет важную роль в митохондриальном дыхании и антиоксидантной защите клеток организма.

Применительно к проблематике диссертации эффективно с получением обладающих новизной результатов использованы: методы исследований в условиях *in vitro* включают выделение и культивирование клеточных культур эндотелиоцитов, астроцитов, нейронов и формирование на их основе трехклеточной модели ГЭБ, проведение оценки структурно-функциональной целостности ГЭБ, а также проведение иммуногистохимического анализа экспрессии маркеров ГЭБ. Методы в условиях *in vivo* включают внутривенное введение препаратов, декапитацию, забор органов, определение тканевого содержания препаратов и редокс-

статуса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), проведение иммуногистохимического анализа экспрессии маркеров ГЭБ и апоптоза на срезах головного мозга крыс;

показано, что коэнзим Q10 в окисленной и восстановленной форме (убихинон и убихинол) в концентрации 1 мкМ повышает проницаемость ГЭБ в течение 2-8 ч. При этом убихинол в концентрации 10 мкМ способен снижать проницаемость ГЭБ через 15 мин воздействия.

проведена оценка экспрессии маркеров компонентов ГЭБ - CD31, Pgp, CLDN5, GSK-3 β , определяющих целостность барьера, его трансцеллюлярную и парацеллюлярную проницаемость и метаболический статус клеток ГЭБ;

установлено, что убихинон и убихинол модулируют экспрессию Rac-1 в модели ГЭБ, снижая ее в течение 2 ч, тем самым снижая АФК-индуцированную проницаемость ГЭБ;

выявлено, что у крыс редокс-статус коэнзима Q10 после однократного внутривенного введения убихинола в дозе 30 мг/кг в мозге оставался на одном уровне. Различия редокс-статуса в мозге и плазме крови свидетельствуют о частичном окислении убихинола при поступлении из крови в мозг до уровня их эндогенного тканевого редокс-баланса, что подтверждает включение препарата в локальные окислительно-восстановительные процессы и доказывает возможность быстрого и эффективного повышения антиоксидантного резерва мозга при внутривенном введении препарата;

установлено, что убихинол повышает количество CD31⁺-клеток в миндалинах и энторинальной коре, увеличивает количество Pgp⁺-клеток в гиппокампе и снижает в миндалинах, а также повышает количество CLDN5⁺-клеток в энторинальной коре, но снижает в гиппокампе и миндалинах и не влияет на GSK-3 β . Увеличение количества CD31⁺-клеток в коре с последующим увеличением количества CLDN5⁺-клеток свидетельствует об интенсификации ангиогенеза. При этом в миндалинах увеличение количества CD31⁺-клеток сопровождалось отсроченным снижением CLDN5⁺-клеток, а в

гиппокампе было лишь снижение CLDN5+-клеток, что подтверждает регион-специфическое действие убихинола.

показано, что в коре, гиппокампе и миндалине здоровых крыс убихинол в дозе 30 мг/кг снижает уровень апоптоза.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что получены данные о действии 1% водного раствора солюбилизированной субстанции убихинола для внутривенного введения на проницаемость и эндотелиальные компоненты ГЭБ, которые следует учитывать при дальнейших доклинических и клинических исследованиях препарата для профилактики и терапии нейровоспаления и нейродегенеративных заболеваний.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ: результаты получены в экспериментах, выполненных на сертифицированном оборудовании; воспроизводимость результатов исследования обусловлена большим объемом экспериментального материала;

теория построена на известных, проверяемых данных, согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации;

идея базируется на анализе и обобщении передового отечественного и зарубежного опыта, а также на экспериментальных данных;

использованы современные методики сбора и статистической обработки исходной и полученной информации; сравнение авторских данных и данных, полученных ранее по рассматриваемой тематике. Положения и выводы обоснованы полученными результатами.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в подготовке диссертационной работы. Соискатель выполняла анализ данных литературы по теме диссертационной работы, проводила экспериментальные исследования, анализ и обобщение полученных результатов, участвовала в подготовке и публикации статей и тезисов докладов. Вклад соискателя является определяющим и заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования: от экспериментально-теоретической реализации поставленных задач до обсуждения результатов в научных публикациях.

В ходе защиты критических замечаний высказано не было. Соискателю были заданы вопросы дискуссионного характера, на которые были даны

исчерпывающие ответы, полностью удовлетворившие членов совета (приведены в стенограмме).

На заседании 15 сентября 2022 года диссертационный совет принял решение – за решение научной задачи, имеющей значение для развития фармакологии, клинической фармакологии – изучение механизма влияния коэнзима Q10 на проницаемость ГЭБ – присудить Шаповал Наталье Сергеевне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 19 докторов наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (д.м.н. - 10, д.б.н. – 9), участвовавших в заседании, из 23 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 18, против - нет, недействительных бюллетеней - 1.

Председатель
диссертационного
совета 24.1.183.01
академик РАН


Сергей Борисович Середенин

Ученый секретарь
диссертационного
совета 24.1.183.01
профессор


Елена Артуровна Вальдман

15 сентября 2022 г

