

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, доцента, заведующего кафедрой неврологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Кутлубаева Мансура Амировича на диссертацию Хабибрахманова Айдара Назимовича «Клинико-молекулярная характеристика дисфункции нервно-мышечных синапсов и активности ацетилхолинэстеразы при боковом амиотрофическом склерозе у человека и в модели на животных» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.24 – неврология, 1.5.5 – физиология человека и животных.

Актуальность темы исследования

В современной неврологии проблема нейродегенеративных заболеваний является крайне актуальной. Боковой амиотрофический склероз (БАС) – это прогрессирующее и неизлечимое нейродегенеративное заболевание, поражающее мотонейроны, что приводит к мышечной слабости и атрофии скелетной мышцы. Если ранее денервация нервно-мышечного синапса (НМС) рассматривалась исключительно как следствие гибели мотонейрона, то на сегодняшний день имеются убедительные данные, свидетельствующие в пользу того, что денервация НМС является самостоятельным и ранним событием в патогенезе БАС. Так как денервация НМС является клинически важным событием, приводящим к прогрессирующей мышечной слабости и амиотрофии, актуальным является поиск биомаркера, отражающего денервацию НМС. Учитывая значительную клиническую гетерогенность БАС, использование различных биомаркеров может способствовать более ранней диагностике заболевания. В качестве одного из биомаркеров может рассматриваться активность ацетилхолинэстеразы (АХЭ) плазмы крови, что имеет теоретическое и экспериментальное обоснование. При этом, несмотря на немалое число исследований, посвященных изучению морфологических и функциональных изменений НМС при БАС, комплексная оценка экспрессии ключевых синаптических белков, участвующих в нервно-мышечной синаптической передаче, ранее не проводилась.

Таким образом, исследование диагностической значимости измерения активности АХЭ как потенциального биомаркера БАС и текущего денервационного

процесса совместно с изучением молекулярных механизмов развития дисфункции НМС, несомненно, является актуальным.

Научная новизна положений, выводов и рекомендаций

Автором впервые была проведена комплексная оценка активности АХЭ в плазме венозной крови и слюне у пациентов с БАС. Автором показано, что активность АХЭ достоверно выше у пациентов с БАС, а именно у пациентов с бульбарной формой заболевания. В то же время было показано, что активность АХЭ в плазме достоверно не изменяется, и автором приведены возможные причины подобного результата. Также в диссертационном исследовании впервые проведена оценка экспрессии важных синаптических белков, вовлеченных в процессы нервно-мышечной синаптической передачи на досимптомной и симптомной стадиях в двух трансгенных моделях БАС. Показано увеличение экспрессии АХЭ в НМС в обеих моделях по мере развития симптомной стадии болезни. Таким образом, активность АХЭ плазмы может также рассматриваться в качестве потенциального биомаркера, отражающего денервацию НМС при БАС, однако требуется совершенствование метода оценки АХЭ в плазме.

Помимо изменения экспрессии АХЭ в НМС, было выявлено, что экспрессия таких пресинаптических белков, как SNAP-25 и синапсин-1, в двух трансгенных моделях изменяется разнонаправленно. Таким образом, единый процесс денервации НМС на начальных этапах может сопровождаться разными молекулярными изменениями. Автор обращает внимание, что это должно учитываться при разработке таргетной терапии, направленной на стабилизацию и нормализацию экспрессии синаптических белков.

Все вышеизложенное полноценно отражено в положениях и выводах, на основе которых сформулированы рекомендации.

Практическая и теоретическая значимость исследования

Очевидна практическая значимость работы. Автором предлагается проводить измерение активности АХЭ слюны для подтверждения БАС у пациентов с бульбарным синдромом в дебюте заболевания. Пресинаптические белки SNAP-25 и синапсин-1 предлагается рассматривать в качестве потенциальных терапевтических мишеней при разработке таргетных терапевтических подходов.

В плане теоретической значимости, полученные автором результаты дополняют представления о БАС. Установленные паттерны изменения экспрессии ряда синаптических белков в НМС на досимптомной и симптомной стадиях в двух трансгенных моделях объясняют электрофизиологические феномены, наблюдаемые

у трансгенных мышей с моделью БАС и у некоторых пациентов. Клинико-молекулярная характеристика активности АХЭ слюны у пациентов с БАС, а также клинико-молекулярная характеристика экспрессии пресинаптических белков в НМС в трансгенных моделях дополняют представления о патогенетической гетерогенности БАС.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертационной работе

Достоверность полученных данных обусловлена дизайном исследования, грамотно объединяющим клиническую и экспериментальную часть диссертационной работы. Несмотря на то, что БАС является орфанным заболеванием, автору удалось сформировать выборку из 17 пациентов с подтвержденным диагнозом. При отборе пациентов с БАС в группу исследования использовались общепринятые диагностические критерии (El-Escorial, Awaji), а также проводилось детальное обследование в соответствии с рекомендациями EFNS.

В экспериментальной части автор использовал наиболее изученные и общепризнанные трансгенные модели БАС – SOD1(G93A) и FUS¹⁻³⁵⁹. Данные модели достаточно точно воспроизводят механизмы развития БАС, что делает правомочным транслирование полученных результатов в трансгенных моделях на человека с данным заболеванием.

В диссертационной работе использовался широкий набор методов исследования – клинико-неврологический метод, спектрофотометрический метод Элмана и его модификация, лазерная конфокальная микроскопия, иммунофлуоресценция.

Методы статистической обработки оптимально подобраны под дизайн исследования, поставленные задачи и полученные первичные данные, что гарантирует достоверность положений и выводов.

Результаты диссертационной работы автор широко осветил в печати и на публичных выступлениях. Автору принадлежит 16 научных работ по теме диссертации, из которых 7 научных статей. Последние были опубликованы в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных изданий ВАК и индексируемых в международных базах данных Scopus и Web of Science.

Результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс на кафедрах неврологии и нормальной физиологии ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, а также в работу неврологического отделения №1 Республиканской клинической больницы Министерства здравоохранения Республики Татарстан.

Оценка содержания диссертации и оформления работы

Диссертация Хабибрахманова А.Н. написана в соответствии с ГОСТ, изложена на 164 листах машинописного текста. Работа включает такие разделы, как введение, обзор литературы, материалы, методология и методы исследования, результаты исследования, обсуждения, заключение, выводы, практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы, список литературы, список иллюстративного материала, приложения. Список литературы включает в себя 343 источника (23 отечественных и 320 зарубежных). Диссертация содержит 12 таблиц и 15 рисунков.

Во **введении** обозначены актуальность и степень разработанности темы, цель с задачами исследования, а также положения, выносимые на защиту, научная новизна и значимость. В **первой главе**, посвященной обзору литературы, широко освещены основные аспекты темы диссертационного исследования, включая современные клинические и фундаментальные представления о БАС, роли НМС и АХЭ в его патогенезе.

Во второй главе, посвященной **материалам и методам исследования**, подробно описан дизайн исследования. Протоколы исследований были проанализированы и одобрены локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России. Используемые в диссертационной работе методы исследования соответствуют современным требованиям и стандартам клинических и фундаментальных исследований, выполнены на достаточном количестве материала.

В **третьей главе** приводятся собственно результаты исследования. Представлены клинические характеристики пациентов с БАС, принявших участие в исследовании, а также результаты исследования активности АХЭ в крови и слюне пациентов с БАС и в крови экспериментальных животных с трансгенной моделью БАС. Продемонстрировано достоверное повышение активности АХЭ в слюне пациентов с бульбарной формой БАС. Далее изложены результаты исследования флуоресценции АХЭ, а также иммуноэкспрессии пре- и постсинаптических белков НМС диафрагмы трансгенных животных с моделью БАС. У трансгенных мышей с моделью БАС по мере развития признаков патологии отмечалось достоверное повышение экспрессии АХЭ в НМС. В mSOD1 - и FUS -трансгенных моделях БАС на досимптомной стадии патологии выявлены разнонаправленные достоверные изменения экспрессии пресинаптических белков НМС – снижение экспрессии SNAP-25 и синапсина I у mSOD1-мышей и повышение экспрессии указанных белков у FUS мышей в сравнении с мышами дикого типа. На симптомной стадии патологии

продемонстрированы однонаправленные изменения экспрессии пресинаптических белков НМС – снижение экспрессии SNAP-25, синапсина I и синаптофизина в обеих моделях. Текст дополнен достаточным количеством информативных таблиц и рисунков, включая фотографии результатов флуоресцентной конфокальной микроскопии, демонстрирующих выявленные в ходе работы изменения в НМС.

В четвертой главе автор обсуждает полученные результаты. Данная глава объемная, так как анализирует большой пласт полученных данных, и вызывает наибольший интерес. Автор убедительно дает объяснение всем полученным результатам. В итоге обсуждения результатов клинических и экспериментальных исследований проводится синтез новых научных знаний, подробно описанных в главе «**Заключение**» и получивших лаконичное представление в виде четырех выводов в соответствующей главе.

Выводы дают полный ответ на поставленные задачи, а также соответствуют сформулированным автором положениям, выносимым на защиту. Практические рекомендации обоснованы, а перспективы дальнейшей разработки темы логично вытекают из полученных результатов.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Результаты, полученные в ходе проведенного диссертационного исследования, послужили основой для формирования выводов и рекомендаций, которые полностью соответствуют поставленной цели и задачам.

В процессе изучения диссертационной работы возникли следующие вопросы дискуссионного характера:

1. Насколько универсально поражение НМС в патогенезе различных форм БАС (в зависимости от степени вовлечения центрального или периферического нейрона)?
2. Какова роль мышечного поражения в развитии дисфункция НМС при БАС?

По оформлению и содержанию диссертации и автореферата принципиальных замечаний нет.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исходя из всего вышесказанного, я считаю, что диссертация Хабибрахманова Айдара Назимовича на тему «Клинико-молекулярная характеристика дисфункции нервно-мышечных синапсов и активности ацетилхолинэстеразы при боковом

амиотрофическом склерозе у человека и в модели на животных» является законченной научно-квалификационной работой. Диссертационное исследование предоставляет решение актуальной научной задачи в области неврологии и физиологии по исследованию диагностического потенциала оценки активности АХЭ плазмы и слюны, а также по исследованию экспрессии синаптических белков НМС при БАС у человека и в модели на животных. Выводы и положения, выносимые на защиту, обладают научной новизной и значимостью. Работа отвечает всем требованиям ВАК Министерства науки и высшего образования, п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (в действующей редакции Постановления Правительства Российской Федерации № 62 от 25 января 2024 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Хабибрахманов А.Н. заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.24 – неврология, 1.5.5. – физиология человека и животных.

Официальный оппонент:

Заведующий кафедрой неврологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор медицинских наук, доцент

(3.1.24 – Неврология)

«19» 08 2024 г.



Кутлубаев Мансур Амирович

Даю согласие на сбор, обработку и хранение персональных данных



Кутлубаев М.А.

Подпись: М.А. Кутлубаева



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, д. 3.

Телефон: +7 (347) 272-11-60;

Электронная почта: rectorat@bashgmu.ru

Адрес в сети интернет: www.bashgmu.ru