

Отзыв официального оппонента

доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой нормальной физиологии с биофизикой Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Маслюкова Петра Михайловича на диссертацию Хабибрахманова Айдар 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 (медицинские науки)

Актуальность темы исследования

Правильное функционирование нервно-мышечного синапса (НМС) обеспечивает нормальное взаимодействие мотонейрона и скелетной мускулатуры, которое приводит к обеспечению выживаемости мотонейрона, роста аксона, стабильности НМС, сократительных свойств мышечных волокон. Считается, что поражение НМС играет немаловажную роль в развитии и течении бокового амиотрофического склероза (БАС). Денервация НМС в конечном итоге приводит к развитию мышечной слабости и атрофии скелетной мышцы, от чего страдают и погибают пациенты. На сегодняшний день БАС все еще остается неизлечимым и трудно диагностируемым нейродегенеративным заболеванием, поздняя диагностика которого негативно сказывается на эффективном поиске новых методов лечения. С целью ранней диагностики в мире ведутся исследования по поиску диагностических биомаркеров БАС. Одним из таких биомаркеров может быть ацетилхолинэстераза (АХЭ), учитывая особенности ее экспрессии и ее роли в функционировании НМС.

В связи с вышеизложенным, актуальным и целесообразным представляется поиск биомаркера заболевания, имеющего диагностическую и прогностическую ценность в отношении денервации НМС при БАС. Кроме того, ранее было показано, что воздействие на стабильность НМС в трансгенных моделях БАС положительно сказывается на течении болезни. Таким образом, изучение экспрессии синаптических белков также может привести к обнаружению возможных мишеней для терапевтического воздействия.

В диссертационной работе Хабибрахманова А.Н. объединены исследование молекулярных механизмов дисфункции НМС через оценку экспрессии

синаптических белков, вовлеченных в процессы нервно-мышечной синаптической передачи, и оценка диагностического потенциала исследования активности АХЭ в качестве биомаркера БАС. Таким образом, считаю диссертационную работу Хабибрахманова А.Н. актуальным исследованием, имеющим высокую степень научной новизны и практической значимости.

Степень достоверности, обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертация Хабибрахманова А.Н. представляет собой самостоятельное научное исследование, выполненное в соответствии с современными требованиями. Обоснованность научных положений и выводов обусловлена логичным дизайном исследования, использованием современных методов исследования и корректных подходов к статистической обработке.

В соответствии с поставленными целью и задачами выполнен большой объем исследований, включающий: моделирование БАС, клинико-неврологическое исследование пациентов, оценка иммунофлуоресценции синаптических белков, измерение активности АХЭ в плазме крови и слюны у пациентов с БАС и в модели заболевания. Позитивным представляется то, что при моделировании БАС в работе были использованы две хорошо изученные трансгенные модели. Для оценки иммунофлуоресценции применялась лазерная конфокальная микроскопия. При этом спецификация использованных антител гарантирует качество и достоверность полученных данных. Активность АХЭ измерялась спектрофотометрическим методом Элмана, который считается «золотым стандартом».

Все вышеизложенное позволило автору получить достоверные результаты, сделать обоснованные выводы и разработать практические рекомендации

Научная новизна исследования, теоретическая и практическая значимость полученных результатов

Научная новизна заключается в том, что впервые была проведена оценка экспрессии сразу ряда синаптических белков, вовлеченных в процессы нервно-мышечной передачи (синапсин-1, синаптофизин, SNAP-25, н-холинорецепторы, АХЭ) в двух трансгенных SOD1- и FUS-моделях БАС на досимптомной и симптомной стадии. В результате получены новые данные о паттернах экспрессии данных синаптических белков. Наиболее значимые изменения касались таких пресинаптических белков, как синапсин-1 и SNAP-25, экспрессия которых на досимптомной стадии изменялась разнонаправленно в двух трансгенных моделях.

Впервые также была изучена экспрессия АХЭ, в результате чего было установлено, что в НМС трансгенных мышей обеих моделей наблюдается схожий паттерн изменения экспрессии АХЭ по мере перехода от досимптомной к симптомной стадии.

Также автором получены новые данные об активности АХЭ в плазме крови и слюне у пациентов с БАС. На основании полученных результатов дана клинико-молекулярная характеристика изменениям активности АХЭ. Установлено достоверное повышение активности АХЭ слюны, характерное для пациентов с бульбарной формой БАС, в сравнении со здоровыми лицами и пациентами со спинальной формой БАС. Не смотря на теоретические и экспериментальные предпосылки, при рутинном измерении активности АХЭ в плазме крови не удалось выявить достоверных изменений у пациентов с БАС.

В плане теоретической значимости автором в очередной раз показаны аспекты гетерогенности БАС на уровне экспрессии синаптических белков в НМС. Полученные данные могут быть использованы для разработки диагностических и терапевтических подходов. Также выявленные различия в активности АХЭ слюны при клинически разных формах БАС, несомненно, имеют определенный фундаментальный субстрат, который необходимо будет выяснить в последующих исследованиях.

Несомненна возможность практического применения полученных результатов. Так, измерение активности АХЭ слюны может оказаться полезным инструментом, облегчающим и ускоряющим диагностику БАС в сложных клинических ситуациях. В то же самое время, активность АХЭ плазмы крови еще остается потенциальным маркером БАС, для подтверждения диагностической роли которого требуется более детальное и углубленное изучение АХЭ (особенно ее изоформ).

Полнота изложения результатов диссертации в научной печати

Полученные в ходе диссертационного исследования результаты были представлены в 16 научных публикациях, а также публично доложены и обсуждены на всероссийских и международных профильных конференциях. Всего было опубликовано 7 научных статей в журналах, входящих в международные базы цитирований Web of Science и Scopus, и рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации.

Общая характеристика, структура и содержание диссертации

Диссертация Хабибрахманова А.Н. изложена на 164 листах, включает 15 рисунков и 12 таблиц. При написании диссертации автором всего было использовано 343 источника литературы, из которых 23 отечественных и 320 зарубежных.

Диссертация состоит из следующих разделов: 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.

В главе «Введение» автором представлена актуальность темы исследования, степень ее разработанности, сформулированы цель и задачи, представлена научная новизна и теоретическая и практическая значимость, и обозначены основные положения, выносимые на защиту. Также автором представлена информация о личном вкладе, о научных публикациях и внедрении результатов диссертационного исследования в практику.

Глава «Обзор литературы» содержит подробную информацию о клинических и фундаментальных аспектах БАС, современные представления о роли НМС в заболевании, а также подробно раскрыты известные клиничко-молекулярные характеристики АХЭ.

Глава «Материалы, методология и методы исследования» подробно представляет данные об использованном материале – пациенты с БАС, группа контроля и группа сравнения, а также трансгенные мыши на разных стадиях заболевания и соответствующие им мыши дикого типа. Подробно описан общий план-дизайн исследования, правила формирования групп пациентов и здоровых лиц, критерии включения и исключения в клиническом исследовании, принципы формирования различных групп трансгенных мышей с моделью БАС и соответствующего контроля. Подробно расписаны методы исследования с обоснованием валидности и достоверности.

В главе «Результаты исследования» описаны результаты проведения экспериментальной работы в соответствии запланированным дизайном исследования. Приводится клиническая характеристика пациентов с БАС, сведения об активности АХЭ плазмы крови и слюны у пациентов с БАС и трансгенных мышей. Произведен анализ данных о флуоресценции АХЭ в нервно-мышечных синапсах диафрагмы, иммуноэкспрессии пре- и постсинаптических белков у mSOD1- и FUS-трансгенных мышей.

В разделе «Обсуждение» автор критически рассматривает результаты собственных исследований, интерпретируя с учетом литературных сведений. Выводы соответствуют поставленным цели и задачам, основным положениям, выносимым на защиту. Содержание автореферата соответствует тексту диссертации, в нем кратко изложены результаты выполненной диссертационной работы.

Список литературы соответствует предъявляемым ГОСТ требованиям, источники представляют современное видение затрагиваемой автором проблемы и обосновывают каждое утверждение в диссертации. Количество источников литературы достаточное. Автореферат в полной мере отражает суть и содержание диссертации, написан грамотно, в классическом научном стиле.

В целом, диссертационная работа Хабибрахманова А.Н. производит положительное впечатление, имеет научное и практическое значение. Принципиальные замечания по содержанию диссертационного исследования отсутствуют. Тем не менее, имеются некоторые вопросы дискуссионного характера:

1. В энтеральной системе насчитывается в несколько раз больше нейронов, чем в спинном мозге, причем большинство нейронов – холинергические. Имеются ли литературные данные о вовлечении в патологический процесс при БАС также энтеральных холинергических нейронов?
2. На стр 74 отмечено, что «у мышей дикого типа по мере старения отмечается достоверное снижение экспрессии АХЭ в НМС диафрагмы». Т.е. в работе исследовались старые мыши? Какой возраст, на взгляд диссертанта, у мышей соответствует старости?
3. В работе приводятся данные по иммуногистохимической окраске nAChR, однако в таблице 2, где приводится характеристика антител, они не указаны. К каким субъединицам nAChR были использованы антитела? Имеются ли литературные данные об изменении состава субъединиц при БАС?

По оформлению и содержанию диссертации принципиальных замечаний нет

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа 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», выполненная под научным руководством д.м.н., профессора Э.И. Богданова и д.м.н., доцента М.А. Мухамедьярова, является завершенной научно-квалификационной работой, содержащей решение важной научной задачи – оценка диагностического потенциала измерения активности ацетилхолинэстеразы совместно с анализом экспрессии синаптических белков, участвующих в нервно-мышечной синаптической передаче, имеющей значения для неврологии и физиологии. Представленная диссертация соответствует требованиям ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного

Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. в действующей редакции Постановления Правительства Российской Федерации №62 от 25.01.2024 г., предъявляемым Министерством науки и высшего образования Российской Федерации к кандидатским диссертациям. Автор диссертационного исследования Хабибрахманов Айдар Назимович заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.24 – Неврология, 1.5.5. – Физиология человека и животных (медицинские науки).

Официальный оппонент:

Заведующий кафедрой нормальной физиологии с биофизикой Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор медицинских наук, профессор



Маслюков Петр Михайлович

Подпись д.м.н. профессора Маслюкова Петра Михайловича заверяю:
Ученый секретарь
доктор медицинских наук, профессор



Мельникова Ирина Михайловна

«16» 08 2024 г.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
Адрес: 150000, г. Ярославль, ул. Революционная, д. 5.
Телефон: 8 (4852) 30-56-41, 8 (4852) 72-91-42,
Электронная почта: rector@ysmu.ru
Адрес в сети интернет: www.ysmu.ru