

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора, академика РАН, заведующего кафедрой фармакологии и биоинформатики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации Спасова Александра Алексеевича на диссертацию Хайруллина Аделя Евгеньевича на тему: «Агонисты и антагонисты пуринорецепторов в регуляции сократительной активности скелетных мышц в норме и патологии», представленную к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям: 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология 3.3.3. Патологическая физиология

Актуальность темы исследования. Современные направления фармакологии сталкиваются с проблемой поиска эффективного, нетоксического, предпочтительно эндогенной природы фактора, способного корректировать нарушения двигательной активности после повреждения нервных структур, поскольку она является основополагающей для общей функциональной активности организма.

P2- рецепторы широко распространены в тканях человека и животных, в том числе в скелетной мускулатуре. Ранее было показано, что АТФ и ее метаболиты определяют эффективность нервно-мышечной передачи на всех значимых этапах: некантовой и спонтанной кантовой секреции, кантового состава вызванной секреции, состояния швановской клетки и постсинаптической мембраны.

В нормальных условиях P2-рецепторы обычно выполняют функцию регуляторов различных процессов в клетках и органах. Однако в условиях патологии их роль становится более значимой, и они могут играть ключевую роль в передаче сигналов.

Скелетные мышцы представляют собой разнообразную группу, включающую быстрые, медленные и смешанные типы. Они отличаются по составу сократительных белков, силе и скорости сокращения, устойчивости к утомлению. Но самое важное различие между ними — это реакция на изменения условий функционирования.

Исследование, проведённое А.Е. Хайруллиным, представляет интерес по нескольким причинам. Во-первых, оно вносит вклад в понимание процессов, происходящих в системе «мотонейрон — скелетная мышца» у млекопитающих в нормальных и патологических условиях. Во-вторых, оно открывает перспективы для практического применения. Например, можно использовать агонисты и антагонисты P2-рецепторов для воздействия на скелетные мышцы в различных ситуациях, включая экстремальные. Это создаёт основу для разработки новых лекарств, которые будут направлены на коррекцию патологических состояний, связанных с P2-рецепторами.

Данное направление перспективно в современной фармакологии и патофизиологии и обуславливает актуальность проведенной работы.

Научная и практическая значимость исследования. В своей диссертационной работе Хайруллин А.Е. определил несколько подтипов P2-рецепторов, которые играют важную роль в синаптической модуляции: P2X1, P2X2 и P2Y13. Эти подтипы представляют собой перспективные мишени для создания новых лекарств, направленных на борьбу с различными патологиями.

В ходе исследования было установлено, что гипотермия и белковая сенсibilизация могут оказывать влияние на пуриnergическую модуляцию, затрагивая постсинаптическую область. Травмы и боковой амиотрофический склероз, в свою очередь, влияют на пресинаптическую область. Это открывает новые горизонты для разработки адресных методов коррекции двигательной активности.

На основе полученных результатов были сформулированы несколько практических рекомендаций. При изучении роли пуринорецепторов в

различных тканях следует учитывать изменение эффективности агонистов и антагонистов этих рецепторов при пониженной температуре. В случае возникновения гипотермии или искусственного охлаждения необходимо быть готовыми к возможному снижению терапевтической эффективности агонистов пуринорецепторов.

Кроме того, при использовании блокаторов Ca^{2+} -каналов также следует учитывать возможное изменение терапевтической эффективности агонистов P2-рецепторов.

В работе были обнаружены скрытые в норме, но возрастающие при ряде патологий постсинаптические эффекты внеклеточной АТФ, которые иногда противоположны по знаку маскирующим их пресинаптическим эффектам. Эти эффекты не следует игнорировать.

Открытие сокращения денервированной скелетной мышцы под действием АТФ может иметь важное значение для понимания механизмов работы нервно-мышечной системы и разработки новых методов лечения заболеваний, связанных с мышечной активностью.

Таким образом, диссертационная работа Хайруллина А.Е. представляет собой высоконаучный и практический вклад в развитие современной фармакологии и патофизиологии.

Оценка структуры и содержания диссертационной работы. Диссертация Хайруллина А.Е. оформлена в классическом стиле в соответствии с существующими требованиями и изложена на 199 страницах машинописного текста, иллюстрирована 38 рисунками и 12 таблицами. Работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка литературы, который включает в себя 369 источников: 14 отечественных и 355 зарубежных, списка иллюстративного материала, сокращений и приложений.

Во введении автор убедительно обосновывает актуальность рассматриваемой проблемы, что позволяет сформулировать цель и задачи исследования, а также его научную новизну и практическую значимость.

Обзор литературы представлен современными данными о физиологических функциях пуринов, классификации P2-рецепторов и их роли в регуляции сократительной активности скелетных мышц. Также описаны факторы, в том числе патологические, которые могут приводить к нарушению пуринергической сигнализации.

Вторая глава посвящена описанию материалов и методов, использованных автором в экспериментальной части диссертации. Приведенные автором методы адекватны, и способствуют решению поставленных задач. Описаны методы статистической обработки результатов. В ходе исследования были применены различные методы. Среди них: электрофизиологический метод регистрации потенциалов концевой пластинки; механомиографический метод регистрации сократительных ответов в сочетании с фармакологическим подходом; биохимический метод оценки активности ферментов; иммуногистохимический метод в комбинации с конфокальной микроскопией и видеоанализ движений.

В работе использовались нервно-мышечные препараты грызунов. Всего в эксперименте было задействовано 302 крысы и 83 мыши, которые были разделены на экспериментальные группы. Для изучения влияния пуринергической системы на сократимость скелетных мышц при различных патологиях автор использовал модель денервации, контузионной травмы спинного мозга, перерезки спинного мозга, гиподинамии, белковой сенсibilизации, бокового амиотрофического склероза и вальпроатную модель аутизма.

Результаты собственных исследований включают в себя несколько разделов, в которых подробно описываются основные серии экспериментов. В разделе «Влияние агонистов и антагонистов пуринергической

сигнализации на потенциалы концевой пластинки» исследуется воздействие пуринов на нервно-мышечные препараты диафрагмы мыши. Было продемонстрировано, что аденозин и АТФ по-разному влияют на потенциалы концевой пластинки в зависимости от их концентрации. Это подтверждает, что пурины действуют на пресинаптическом уровне.

Следующие серии экспериментов посвящены выявлению механизмов пуринергической сигнализации. С помощью механомиографии регистрировалась сократительная активность «медленных» и «быстрых» мышц. Комбинированное использование агонистов и антагонистов пуриновых рецепторов подтвердило, что эффекты пуринов имеют рецепторную природу.

Дальнейшие эксперименты позволили выявить участников пуринергической сигнализации. Для этого автор использовал селективные антагонисты рецепторов и ингибиторы вторичных посредников. Это позволило обнаружить два сигнальных пути для аденозина (опосредованные A₁- и A_{2A}-рецепторами) и один путь (опосредованный протеинкиназой C) для АТФ.

Затем следует серия экспериментов по выявлению постсинаптических эффектов АТФ и аденозина в условиях гиперкальциевой среды. Результаты показали, что аденозин не оказывает постсинаптического действия, в отличие от АТФ.

В разделе «Иммуногистохимическое определение подтипов P₂-рецепторов» автор проводит типирование P₂-рецепторов в нервно-мышечных синапсах трёх мышц: *m.soleus*, *m.EDL* и *m.diaphragma*. В результате были обнаружены P₂Y₁₃ и P₂X₁ и P₂X₂ подтипы рецепторов.

Далее автор описывает результаты экспериментов, проведённых при различных условиях. В частности, он исследовал эффекты АТФ и аденозина при гипотермии, а также при различных видах стимуляции, таких как низкочастотная и высокочастотная электростимуляция и сокращения, вызванные карбохолином. В этих экспериментах было показано, что

эффекты АТФ зависят от температуры, а неселективный блокатор P2-рецепторов сурамин может предотвратить не только модулирующее действие АТФ, но и температурные изменения в сократимости мышц. Для объяснения температурной чувствительности эффектов АТФ были проведены биохимические эксперименты. Результаты показали, что эктонуклеотидазы могут быть вовлечены в феномен термолабильности эффекта АТФ.

Следующие эксперименты были направлены на изучение влияния агонистов и антагонистов пуринорецепторов на сократимость скелетных мышц в условиях различных патологий. Исследовались такие модели, как травма периферического нерва, контузионная травма спинного мозга, перерезка спинного мозга, гиподинамия, белковая сенсibilизация, вальпроатная модель аутизма и боковой амиотрофический склероз.

Оказалось, что все эти модели вызывают схожие изменения в пуринергической регуляции сократимости скелетных мышц. Особенно интересным было обнаружение феномена сокращения денервированных скелетных мышц в ответ на аппликацию АТФ.

Четвёртая глава посвящена обсуждению результатов, где выполнен анализ полученных результатов с учетом данных научной литературы, обоснована целесообразность дальнейшего изучения P2-рецепторов как перспективных мишеней для будущих лекарств.

В заключении автор кратко обобщает все полученные данные, диссертация завершается 8 выводами, соответствующими полученным данным экспериментальной части работы. Практические рекомендации логичны и конгруэнтны результатам диссертационного исследования.

Список литературы полный, составлен в соответствии с современными требованиями.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, рекомендаций и выводов. Диссертация представляет собой самостоятельное научное исследование, которое выполнено с учётом современных требований.

Автор получил достоверные результаты благодаря тщательному отбору данных, корректной постановке задач и использованию современных статистических методов.

Научные положения, которые выносятся на защиту, являются ключевыми в диссертации. Их обоснованность, достоверность и новизна подтверждаются результатами исследований, выводами и практическими рекомендациями.

Выводы логично и закономерно следуют из содержания работы, соответствуют поставленной цели и задачам и чётко сформулированы. Практические рекомендации основаны на полученных данных.

Автореферат диссертации полностью отражает суть и основное содержание диссертационного исследования. Основные результаты работы отражены в 47 публикациях, из них 22 в журналах, входящих в базы Scopus и Web of Science и 1 монография, получен 1 патент.

Принципиальных замечаний и возражений по диссертационной работе нет. Вместе с тем, в ходе рецензирования диссертационной работы возникли следующие вопросы, требующие дополнительного уточнения, но не затрагивающие существа работы:

1. Почему вы не использовали информационные ресурсы Open Targets и Pharos?

2. Достаточно ли ваша доказательная база для обоснования идентификации, валидности и приоритизации в качестве мишени P2 рецепторов;

3. Почему вы не предприняли попытки поиска новых модуляторов P2 – рецепторов?

Заданные вопросы носят дискуссионный характер и не снижают ценности работы.

Заключение

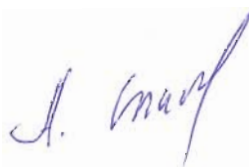
Диссертация Хайруллина Аделя Евгеньевича «Агонисты и антагонисты пуринорецепторов в регуляции сократительной активности скелетных мышц

в норме и патологии», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной проблемы фармакологии и патофизиологии — поиске новых подходов к фармакологической коррекции двигательной активности в норме и патологии.

Работа полностью соответствует паспортам специальностей 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, 3.3.3. Патологическая физиология. Актуальность, научная новизна и научно-практическая значимость работы соответствуют всем требованиям п.9 «Положения о присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., в действующей редакции Постановления Правительства РФ № 1382 от 16.10.2024 г., предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.3.6. – Фармакология, клиническая фармакология, 3.3.3 – Патологическая физиология, а ее автор, Хайруллин Адель Евгеньевич, достоин присуждения ученой степени доктора медицинских наук.

Официальный оппонент

Заведующий кафедрой фармакологии и биоинформатики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, академик РАН, профессор, доктор медицинских наук
17.03.2025



Спасов А.А.

Подпись А.А. Спасова заверяю:

Ученый секретарь Ученого совета
ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России,
доцент кафедры общественного здоровья
и здравоохранения Института НМФО,
кандидат медицинских наук, доцент



Емельянова О.С.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Волгоградский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Адрес: 400131, г.Волгоград, площадь Павших борцов, д.1,
Тел.:+7 (8442) 38-50-05
E-mail: post@volgmed.ru