

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора, заслуженного деятеля науки Татьяны Александровны Ворониной на диссертацию Аделя Евгеньевича Хайруллина 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 и 3.3.3. - патологическая физиология

Актуальность

P2-рецепторы, основным эндогенным лигандом которых является аденозинтрифосфат (АТФ), широко распространены в тканях человека и животных, в том числе в скелетной мускулатуре. Известно, что в физиологических условиях P2-рецепторы являются модуляторами функций клеток и систем, однако их роль значительно возрастает при патологии, когда они могут начать играть главенствующую роль в качестве сигнальных молекул.

Актуальность исследования А.Е. Хайруллина определяется, с одной стороны, фундаментальной составляющей, поскольку существенно расширяет представления о процессах, происходящих в нервно-мышечном синапсе млекопитающих в норме и при патологии. С другой стороны, представленная работа имеет перспективы прикладного характера, поскольку в ней изучено влияние агонистов и антагонистов P2-рецепторов на функционирование скелетных мышц в различных, в том числе, экстремальных, ситуациях, что создает основу для поиска новых лекарственных препаратов, направленных на лечение ряда патологических процессов, мишенью действия которых являются P2-рецепторы.

В связи с вышеизложенным, диссертационное исследование А.Е. Хайруллина, посвященное изучению влияния агонистов и антагонистов пуринорецепторов на сократительную активность скелетных мышц в норме и при патологических состояниях, имеет высокую степень актуальности и научно-практическую значимость.

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

Диссертация А.Е. Хайруллина представляет собой самостоятельное научное исследование, выполненное в соответствии с современными требованиями к докторским диссертациям.

Достоверность полученных автором результатов основана на достаточном объеме выборки, постановки и выполнения адекватных задач и использования современных статистических методов.

Научные положения, выносимые на защиту, отражают ключевые выводы диссертационной работы. Степень обоснованности научных положений, их достоверность и новизна подтверждается результатами проведенных исследований, их корректным анализом, статистической обработкой и интерпретацией.

Выводы логично отражают содержание работы, соответствуют поставленной цели и задачам, четко сформулированы. Практические рекомендации вытекают из полученных данных.

Научная новизна исследования, теоретическая и практическая значимость полученных результатов

Научная и практическая значимость результатов, полученных Аделем Евгеньевичем Хайруллиным, неоспорима. В настоящее время во многих лабораториях мира активно изучают роль P2-рецепторов, и эти исследования включают работы на тканях скелетной мускулатуры. Однако в доступной литературе отсутствуют данные, аналогичные тем, что были получены Хайруллиным А.Е. в ходе его диссертационного исследования.

Впервые была исследована температурная зависимость модулирующего влияния P2-рецепторов на функциональную активность скелетных мышц млекопитающих. Также были получены новые данные о роли P2-рецепторов в регуляции активности скелетных мышц при гипогравитационной разгрузке, травмах периферических нервов и спинного мозга, а также при боковом амиотрофическом склерозе.

Достоинством работы является то, что она представляет собой комплексное исследование, в котором использованы фармакологические, электрофизиологические, биохимические и морфологические методы. Ранее подобные исследования в таком полноценном сочетании не проводились.

Диссертационная работа Хайруллина А.Е. имеет несомненную практическую значимость, поскольку обосновывает разработку лекарственных средств для коррекции различных нарушений двигательной активности. Результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс на кафедрах фармакологии, биохимии и нормальной физиологии ФГБОУ ВО Казанского ГМУ Минздрава России.

Оценка структуры и содержания диссертационной работы

Диссертационная работа Хайруллина А.Е. построена по традиционному плану, изложена на 199 страницах машинописного текста. Состоит из введения, обзора литературы, раздела материалы и методы, глав собственных исследований, раздела обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейших разработки темы, списка литературы, а также приложений. Библиографический указатель включает 369 источников, из них 14 отечественных и 355 зарубежных. Работа содержит 38 рисунков и 12 таблиц.

В разделе «Введение» обоснована актуальность рассматриваемой проблемы, что позволяет автору сформулировать цель и задачи исследования, научную новизну и практическую значимость.

В обзоре литературы представлены современные данные по физиологии и биохимии пуринов, классификации пуринорецепторов, их роли в регуляции сократительной активности скелетных мышц, классификации и характеристике скелетных мышц, а также описаны факторы, в том числе патологические, способные приводить к нарушению пуринергической сигнализации. Автором анализируются в основном те источники литературы, которые имеют непосредственное отношение к цели и задачам работы, что свидетельствует о глубоком знании автором предмета исследования.

Во второй главе описаны материалы и методы, использованные автором: 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, а также видеоанализ движений.

Исследования проводились на нервно-мышечных препаратах грызунов. Всего в работе было использовано 302 крысы и 83 мыши, все животные были разделены на группы. Чтобы понять, как пуринергическая система регулирует сократимость скелетных мышц при различных патологиях, автор использует разнообразные модели. Среди них: модель денервации, модель контузионной травмы спинного мозга, модель перерезки спинного мозга, модель гиподинамии, модель белковой сенсibilизации, модель бокового амиотрофического склероза, вальпроатная модель аутизма.

В третьей главе диссертации представлены «Результаты собственных исследований», разбитые на 18 подглав. Раздел 3.1 «Влияние агонистов и антагонистов пуринергической сигнализации на потенциалы концевой пластинки» посвящен оценке пресинаптических эффектов пуринов на выделенных нервно-мышечных препаратах диафрагмы мыши. Показано разнонаправленное концентрационно-зависимое действие аденозина и АТФ на потенциалы концевой пластинки, подтверждающее пресинаптическую природу эффектов пуринов.

Разделы 3.2 и 3.3 посвящены выявлению пресинаптических механизмов пуринергической сигнализации, методом механомиографии регистрировалась сократительная активность «медленных» и «быстрых» мышц. Комбинированное использование агонистов (АТФ и аденозина) и антагонистов (сурамина и 8-SPT) P2- и аденозиновых рецепторов подтвердило рецепторную природу эффектов пуринов. Дальнейшее выявление участников этой сигнализации осуществлялось последовательным добавлением в экспериментальную среду селективных антагонистов рецепторов и ингибиторов вторичных посредников (N-этилмалеимид (10 мкМ), Rp-cAMФ (50 мкМ), DPCPX (0,1 мкМ), нитрендипин (5 мкМ), хелеритрин (5 мкМ)), что позволило автору выявить два сигнальных пути для аденозина (A1- и A2A-рецептор опосредуемый) и один (протеинкиназаC зависимый) для АТФ. В разделе 3.4 предпринимается попытка выявления постсинаптических эффектов АТФ и аденозина в условиях гиперкальциевой среды, из результатов следует, что аденозин не обладает постсинаптическим действием в отличие от АТФ.

Следующий раздел «Имуногистохимическое определение подтипов P2-рецепторов» посвящен типированию P2-рецепторов в нервно-мышечных синапсах «медленной», «быстрой» и «смешанной» мышц. Автором показано наличие метаботропного P2Y13 и ионотропных P2X1 и P2X2 подтипов рецепторов. Далее в работе последовательно описываются результаты экспериментов при гипотермии, при различных видах стимуляции (электростимуляция низкочастотная, высокочастотная, карбохолин-индуцированные сокращения и проч.). В этих сериях экспериментов автор показал температурную зависимость эффектов АТФ, но не аденозина. Кроме этого, оказалось, что постсинаптические эффекты АТФ становятся гораздо более выраженными в условиях гипотермии, а неселективный блокатор P2-рецепторов сурамин способен предупредить не только модулирующее действие АТФ, но и температурные изменения в сократимости исследуемых мышц. Для объяснения механизма температурной чувствительности эффектов АТФ автором были проведены биохимические эксперименты, из результатов которых вытекает вывод о вовлеченности эктонуклеотидаз в описанный выше феномен термочувствительности эффекта АТФ.

Дальнейшие серии экспериментов посвящены оценке влияния агонистов и антагонистов пуринорецепторов на сократимость скелетных мышц на многочисленных моделях патологий (травма периферического нерва, контузионная травма спинного мозга, перерезка спинного мозга, гиподинамия, белковая сенсibilизация, вальпроатная модель аутизма и боковой амиотрофический склероз). Оказалось, что все модели травм и боковой амиотрофический склероз провоцируют схожие изменения в пуринергической регуляции сократимости скелетных мышц, однако особенно интересным является возникновение феномена сокращения денервированных скелетных мышц в ответ на аппликацию АТФ.

В четвертой главе представлено обсуждение результатов, где отражена взаимосвязь и возможные объяснения экспериментальных результатов в сопоставлении с данными, полученными ранее другими авторами. В заключении автором кратко обобщаются все полученные данные, формулируются выводы и практические рекомендации по использованию результатов работы.

Выводы диссертации соответствуют цели и поставленным задачам. Все задачи решены, выводы обоснованы, логично вытекают из представленного материала и дают основание для практических рекомендаций.

Список литературы полный, составлен в соответствии с современными требованиями.

По материалам диссертационной работы опубликовано 47 работ, включая 22 статьи в российских и зарубежных журналах, входящих в базы Scopus и WebofScience, одна монография и один патент.

Результаты исследования были представлены на международных и всероссийских научных конференциях.

Автореферат и опубликованные работы полностью отражают содержание диссертации.

В целом, диссертационная работа Аделя Евгеньевича Хайруллина представляет собой самостоятельно выполненное, завершённое научное исследование, имеющее несомненное научное и практическое значение.

Принципиальных замечаний к диссертационной работе нет. Вместе с тем, при ее изучении возникли следующие вопросы:

1. В диссертационной работе присутствует раздел, посвященный влиянию АТФ и сурамина на сокращения скелетных мышц на модели расстройств аутистического спектра. Почему эти результаты не представлены в автореферате?

2. Каковы на Ваш взгляд дальнейшие перспективы изучения пуринергической модуляции синаптической передачи?

3. В последние годы (2019-2024 г.) в зарубежных работах приводятся данные о том, что агонисты и антагонисты P2-рецепторов обладают анальгетическим, противовоспалительным, противоопухолевым, седативным и другими эффектами, и некоторые из этих веществ находятся на расширенных доклинических исследованиях и даже на стадиях клинических исследований. По каким показаниям, заболеваниям эти агонисты и антагонисты P2-рецепторов изучаются в клинике и какие результаты получены по этим новым соединениям?

4. Могут ли разрабатываемые за рубежом агонисты и антагонисты P2-рецепторов представлять интерес для их изучения на Ваших моделях с целью расширения

