

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию

Артура Владимировича Гавриченко

**на тему: «ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ НЕКВАНТОВОГО
АЦЕТИЛХОЛИНА В МЕХАНИЗМАХ, ПРЕПЯТСТВУЮЩИХ
ПРОГРЕССИРОВАНИЮ ХРОНИЧЕСКОЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ
ДЕМИЕЛИНИЗИРУЮЩЕЙ ПОЛИНЕВРОПАТИИ»**

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

по специальностям

1.5.5 - физиология человека и животных

3.1.24 - неврология

Актуальность темы

Хронические заболевания нервно-мышечного аппарата различного генеза имеют ряд общих проявлений, таких как структурные изменения в двигательном волокне и нарушения в функционировании нервно-мышечной передачи. Различные аспекты порционного (квантового) выделения ацетилхолина в ответ на нервный стимул достаточно хорошо изучены как в норме, так и при патологиях. Однако, вопрос о физиологической роли ацетилхолина, выделяющегося в неквантовом виде, в механизмах синаптической пластичности и регуляции мышечной трофики до сих пор остается открытым. Именно поэтому исследование А.В. Гавриченко, посвященное изучению роли неквантово выделяемого ацетилхолина в механизме, препятствующем развитию хронической воспалительной демиелинизирующей полиневропатии (ХВДП), является актуальным, а полученные результаты имеют несомненную значимость для современной физиологии и медицины.

Структура работы

Представленная работа написана в классическом стиле: изложена на 111 страницах, и состоит из глав: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение результатов», «Заключение». Работа завершается изложением выводов, формулировкой практических рекомендаций и приложением списка цитируемой литературы. Последний насчитывает 181 работу, из которых 46 – это публикации в отечественных изданиях и 135 – в зарубежных. Работа хорошо иллюстрирована, содержит 10 таблиц и 17 рисунков. Диссертация написана хорошим научным языком, грамотно и лаконично; читается достаточно легко.

Общая характеристика диссертационной работы

Вводная часть диссертационной работы изложена на 8 страницах, где обоснована актуальность проведения исследования, сформулирована цель и задачи исследования. Далее приведены сведения о научной новизне, теоретической и практической значимости, о методологии и методах исследования, степени достоверности и апробации результатов, о личном вкладе диссертанта, и собственно о структуре самой диссертационной работы. В этой же главе сформулированы и положения, выносимые на защиту.

«Обзор литературы» представлен на 28 страницах. Несмотря на такой небольшой объем этой главы, автору удалось достаточно подробно описать историю изучения хронической воспалительной демиелинизирующей полиневропатии, патогенез и клиническую картину данного заболевания, современные представления о диагностике и лечении этой патологии. Далее, в обзоре рассмотрены фундаментальные аспекты развития и функционирования нервно-мышечной системы и собственно нервно-

мышечного синапса; изложены представления о трофическом влиянии ацетилхолина на мышечные волокна и роли в этом никотиновых холинорецепторов и Na^+/K^+ -АТФазы. Кроме того, именно в этой главе автором даётся разъяснение возникающего у читателя вопроса относительно того, насколько релевантно сопоставлять данные, полученные на препаратах млекопитающих и птиц.

«Материалы и методы» изложены на 9 страницах, где лаконично описаны методы клинической и экспериментальной части с акцентом на подробном описании метода органотипического культивирования миоцитов.

«Результаты» исследования изложены на 23 страницах и прекрасно проиллюстрированы таблицами и рисунками. В данной главе автор описывает и систематизирует результаты клинко-неврологического и нейрофизиологического исследования группы пациентов с диагнозом хронической воспалительной полиневропатии. Именно в этом разделе приведены результаты, свидетельствующие о том, что в плазме крови пациентов с ХВДП обнаруживаются антитела к никотиновым холинорецепторам, причем титр этих антител в среднем превышает норму в 20 раз. Этот результат серьезно расширяет наши представления о патогенезе данного заболевания и позволяет автору сформулировать тезис о «мышечной компоненте хронической воспалительной демиелинизирующей полиневропатии», которая далее исследуется на модели *in vitro*. На разработанной модели органотипической культуры миоцитов впоследствии получены результаты, которые позволяют автору сделать выводы о том, что модуляция ацетилхолином в наномолярной концентрации сигнальной функции Na^+/K^+ -АТФазы может быть одним из механизмов, препятствующих развитию миопатического синдрома при ХВДП.

«Обсуждение» экспериментальных результатов изложено 12 страницах, где на основе полученных данных формулируется ряд предположений, гипотез и заключений о значимости трофической роли

«неквантового» ацетилхолина и роли Na^+/K^+ -АТФазы в норме и при развитии ХВДП, а также об обнаруженном феномене «повреждения» мышечной системы у пациентов с данной патологией. Всё это позволило автору сформулировать новый подход к лечению синдрома мышечных атрофий у больных ХВДП, который, помимо иммуномодулирующей терапии, направленной на устранение воспалительных процессов в нервах, будет ориентирован и на скелетное мышечное волокно, где в качестве молекулярных мишеней для лекарственных средств могут выступать никотиновые холинорецепторы и Na^+/K^+ -АТФаза.

Достоверность и новизна полученных данных

Автором получен значительный массив экспериментальных данных, новизна которых не подлежит сомнению. Так, в работе впервые получены приоритетные данные о трофотропных эффектах ацетилхолина в наномолярных концентрациях на рост эксплантатов ткани скелетной мышцы. Впервые обнаружены трофотропный (в норме) и миопротекторный (модель патологии) эффекты оуабаина в концентрации, сопоставимой с эндогенной; описана роль сигнальной функции Na^+/K^+ -АТФазы в его реализации. Особое значение имеют результаты экспериментов, в которых эксплантаты ткани скелетной мышцы культивировались в присутствии плазмы крови здоровых добровольцев. Сравнительный анализ этих данных, с результатами, полученными на модели патологии (при культивировании эксплантатов в среде, содержащей плазму крови пациентов) прямо доказывает участие никотиновых холинорецепторов в развитии миопатического компонента ХВДП.

Научная значимость представленной работы заключается в том, что в проведенных клинико-экспериментальных исследованиях были получены приоритетные данные о физиологической роли неквантово выделяемого ацетилхолина в регуляции трофики скелетных мышц. При этом было

доказано, что трофотропный и миопротекторный эффекты ацетилхолина в наномолярной концентрации реализуются как при непосредственной модуляции сигнальной функции Na^+, K^+ -АТФазы, так и при участии ансамбля никотинового холинорецептора - Na^+, K^+ -АТФаза.

Достоверность данных клинического обследования обусловлена: (а) строгим соблюдением диагностических критериев EFNS/PNS 2010; (б) получением результатов в специализированном медицинском учреждении в составе команды из специалистов-врачей.

Достоверность экспериментальных данных также не вызывает сомнений, поскольку: (а) результаты получены с использованием адекватного методического подхода и классического набора фармакологических агентов; (б) в каждой серии экспериментов использовалось достаточное количество препаратов для надежной статистической обработки.

Степень обоснованности научных положений, выводов

Большой массив экспериментальных данных, тщательно выполненные эксперименты, грамотная статистическая обработка результатов, всё это, в купе со знанием современной научной литературы по разрабатываемой проблеме, позволило автору вполне обоснованно сформулировать 5 выводов, которые легли в основу 5-ти положений, выносимых на защиту.

В пользу обоснованности выводов и положений, сформулированных в диссертации, свидетельствует также и тот факт, что результаты работы докладывались и не однократно обсуждались на крупных тематических конференциях, а также нашли свое отражение в 6 статьях в рецензируемых изданиях из перечня ВАК.

Замечания

Принципиальных замечаний к диссертационной работе Гавриченко А.В. у меня не возникло. В работе есть лишь единичные моменты, которые незначительно затрудняют восприятие текста и которые можно было бы избежать.

1. Наличие более десятка орфографических и пунктуационных ошибок. Например, стр. 5 «цереброспи^тальная жидкость»; стр. 16 «с аутоим^унным»; стр. 79 «Не_смотря на полученные»; стр. 12 «Достоверность результатов, обусловлена» (лишняя запятая); стр. 23 «свойственных ГКС а также более» (пропущена запятая) и т.д.
2. Отсутствие единообразия при использовании термина, обозначающего белок, который ответственен за захват холина. В списке сокращений и стр. 28 - используется «ТХ1 - транспортер холина 1»; на стр. 31 дважды используется выражение «транспортер, реализующий обратный захват холина из синаптической щели»; стр. 33 – «транспортного белка (системы захвата холина высокого сродства)». Это один и тот же белок и лучше было бы везде использовать один унифицированный термин.

Вопросы

При изучении работы у меня возникло несколько вопросов дискуссионного характера:

1. На задней части голени в процессе онтогенеза у птиц развивается 4 отдельные мышцы с различным составом быстрых и медленных волокон. При этом у птиц имеется относительно большая и однородная мышца – большая грудная. Почему именно голень была выбрана в качестве источника клеток культуры миоцитов, а не грудь?

2. В экспериментах на нервно-мышечных препаратах половозрелых млекопитающих d-тубокурарин используют в концентрациях 1 мкмоль и выше, поскольку в более низких концентрациях не все холинорецепторы заблокированы и проявляются эффекты эндогенного ацетилхолина. Тот факт, что в Ваших экспериментах d-тубокурарин полностью не устранял миопротективное действие «неквантового» ацетилхолина может быть связано с крайне низкой концентрацией блокатора (0.1 нмоль). Прокомментируйте это. И всё-таки, чем был обусловлен выбор концентрации именно 0.1 нмоль? Были ли проведены эксперименты с использованием более высоких концентраций блокатора для устранения эффектов ацетилхолина?
3. Зарегистрировано миотоксическое действие у плазмы крови пациентов с ХВДП при разведении до 1:70 и 1:100, тогда как при 1:30 этого эффекта нет. В обсуждении Вы выдвигаете предположение о том, что это может объясняться «наличием трофических факторов в плазме крови, частично нивелирующих токсическое действие антител к НХР». На Ваш взгляд, что это может быть? Какие именно факторы?

Приведенные замечания и вопросы никоим образом не умаляют общей высокой оценки работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Отмечая актуальность, новизну, теоретическую и практическую значимость, а также высокий методический уровень выполнения исследования, можно сделать следующее заключение: диссертационная работа Артура Владимировича Гавриченко «Физиологическая роль неквантового ацетилхолина в механизмах, препятствующих прогрессированию хронической воспалительной демиелинизирующей

полиневропатии» является законченной научно-квалификационной работой и полностью отвечает требованиям Постановления Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 «О порядке присуждения ученых степеней» с изменениями постановления Правительства Российской Федерации от 26.09.2022 г. № 1690 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней», а ее автор вполне заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 1.5.5 - физиология человека и животных и 3.1.24 – неврология.

Официальный оппонент:

Кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
лаборатории биофизики синаптических процессов
Казанского института биохимии и биофизики
ФИЦ КазНЦ РАН



Маломуж Артём Иванович

Контактные данные:

Телефон: 7(843) 292-76-47; e-mail: artur57@list.ru

Специальность, по которой защищена диссертация:
03.00.13 – физиология (2002 г.)

Адрес места работы:

420111, г. Казань, ул. Лобачевского 2/31,
Казанский институт биохимии и биофизики-обособленное структурное
подразделение Федерального государственного бюджетного
учреждения науки «Федеральный исследовательский центр
«Казанский научный центр Российской академии наук»,
Лаборатория биофизики синаптических процессов
Тел: (843) 292-73-47; e-mail: kibmail@kibb.knc.ru

1 ноября 2022 г.

