

УТВЕРЖДАЮ
Ректор Федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения
высшего образования
«Воронежский государственный
медицинский университет им. Н.Н. Бурденко»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации



доктор медицинских наук, профессор
И.Э. Есауленко

31 » 08 2021г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертацию **Енгалычевой Марии Германовны** на тему:

«Активность цистеиновых катепсинов и уровень карбонилированных белков при болезни Альцгеймера и деменции сосудистого генеза»,
представленную к защите на соискание ученой степени кандидата
медицинских наук по специальности 03.01.04 – Биохимия

Актуальность работы.

Среди наиболее важных заболеваний нервной системы, имеет болезнь Альцгеймера, которая характеризуется тяжелыми нейродегенеративными изменениями у людей пожилого возраста. Отклонения при этой болезни происходят на молекулярном уровне и возникают задолго до первых клинических ее проявлений. Поэтому для специалистов важное значение имеет своевременное обнаружение этой патологии, с целью вовремя начать лечение.

Поиск специфических маркеров для болезни Альцгеймера, составляет актуальную проблему современной медицинской биохимии. Этому вопросу и

посвящена представленная научно-исследовательская работа. В теоретическом плане это исследование позволяет расширить наши представления о патогенезе развития одной из патологий нервной системы. Она имеет и практическое значение для медицины, демонстрируя новые методы диагностики на ранних стадиях развития заболевания.

Таким образом, выполненная работа по теме диссертации Енгальчевой Марии Германовны является весьма актуальной, имеющая большое теоретическое и практическое значение.

Диссертация изложена на 138 страницах машинописного текста, содержит 15 таблиц и 47 рисунков.

Новизна полученных результатов, выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации

Впервые исследована активность цистеиновых катепсинов полиморфноядерных и моноядерных лейкоцитов пациентов с болезнью Альцгеймера, а также пациентов с деменцией сосудистого генеза. Было выявлено, что болезнь Альцгеймера ассоциирована с нарастанием активности цистеиновых катепсинов В, L, Н в плазме и моноядерных лейкоцитах, а также катепсинов В и Н в полиморфноядерных лейкоцитах периферической крови. Установлено, что активность катепсина L изменяется в динамике болезнью Альцгеймера в моноядерных и полиморфноядерных лейкоцитах.

В ходе исследования впервые определено содержание карбонильных производных модифицированных белков во фракционированных лейкоцитах при болезни Альцгеймера и деменции сосудистого генеза. Обнаружено достоверное повышение уровня карбонильных производных в моноядерных лейкоцитах, а также истощение резервно-адаптационного потенциала этих клеток. В этой же фракции лейкоцитов обнаружено статистически достоверное повышение уровня веществ низкой и средней молекулярной массы.

Отрицательная обратная связь средней силы была выявлена между уровнем окислительной модификации белков и активностью катепсина Н в полиморфноядерных и моноядерных лейкоцитах.

Полученные данные подтверждают и уточняют гипотезу патогенеза болезни Альцгеймера, в основе которой лежат представления об амилоидном каскаде, которая предполагает, что ключевым событием в развитии этой патологии является аномальное амилоидогенное расщепление трансмембранного белка-предшественника амилоида (APP). Это приводит к перепроизводству, олигомеризации, а затем отложению агрегатов Аβ-белка в центральной нервной системе.

Теоретическая и практическая значимость работы

Исследование носит преимущественно фундаментальный характер. Представленные в работе экспериментальные данные позволяют оценить метаболические изменения лейкоцитов периферической крови при болезни Альцгеймера (состояние активности цистеиновых протеиназ, уровень окислительной модификации белка, степень выраженности синдрома эндогенной интоксикации), что может быть учтено при разработке прижизненной диагностики и мониторинга течения болезни Альцгеймера.

В соответствии с новыми научными данными были разработаны 4 практические рекомендации, повышающие достоверность специфичности лабораторного исследования при болезни Альцгеймера

Сформулированные в работе практические рекомендации соответствуют представленным в диссертации положениям и выводам.

Характеристика диссертационной работы.

Диссертационная работа Енгальчевой Марии Германовны написана по традиционному плану и состоит из разделов: введения, обзора литературы, глав с описанием материалов и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения и выводов. Тема диссертации соответствует заявленной научной специальности.

В обзоре литературы автор дает исчерпывающую информацию об участии

катепсинов в патогенезе, развития окислительного стресса при болезни Альцгеймера. Показано наличие эндогенной интоксикации при нейродегенеративном процессе. Рассмотрены современные представления о патогенезе болезни Альцгеймера и деменции сосудистого происхождения.

Показана взаимосвязь изменения активности катепсинов, окислительного стресса и эндогенной интоксикации в патогенезе болезни Альцгеймера. Демонстрируется роль лейкоцитов в патогенезе болезни Альцгеймера. В частности, приводятся примеры участия моноцитарных лейкоцитов в патогенезе болезни Альцгеймера, в виде значительных в них молекулярных изменений.

Показан параллелизм изменений метаболизма в полиморфноядерных лейкоцитах при болезни Альцгеймера.

На основании приведенных литературных данных, автор делает заключение о возможности вовлечения катепсинов в метаболические процессы, протекающие в нервной системе при болезни Альцгеймера. Данные о вкладе лизосомальных цистеиновых протеиназ в развитие болезни Альцгеймера немногочисленны и противоречивы. Литературные сведения об изменении активности катепсинов в периферических клетках крови при болезни Альцгеймера не встречаются. Также не исследован вопрос взаимосвязи состояния активности цистеиновых протеаз и выраженности окислительного стресса в лейкоцитах пациентов с нейродегенеративным заболеванием.

В современных библиографических источниках практически не встречается информация об уровне окислительной модификация белков в лейкоцитах при болезни Альцгеймера, не исследована динамика изменения показателя с течением заболевания.

Автор считает, что преобладание катаболических процессов над анаболическими, активация белоксинтезирующих систем, нарушение работы систем детоксикации, приводят к развитию синдрома эндогенной интоксикации в организме пациентов с болезни Альцгеймера. Не совсем ясна динамика эндогенной интоксикации при этой болезни.

Данный раздел создает благоприятное впечатление о глубоком

всестороннем знании автором изучаемой проблемы и, главное, дается четкое научное обоснование цели и задачам для выполнения диссертационного исследования. Список литературы включает 261 источник: 67 отечественных и 194 зарубежных.

Глава 2, названная автором «Материалы и методы исследования» содержит достаточно подробное описание экспериментальных моделей и биохимических методик, которые использовались для решения поставленных задач.

Методы, использованные в работе, адекватны поставленным задачам, они разнообразны и включают в себя способы разделения компонентов белой крови.

Использованы методы спектрофлуориметрии. Широко определялись иммуноферментные методы анализа. Регистрация динитрофенилгидразонов в световом спектре определялась путем расчета площадей под кривой спектра поглощения окислительной модификации белков. Методика оформлена в виде патента.

Достоверность и новизна основных выводов диссертации не вызывает сомнения. Они получены на большом объеме новых экспериментальных данных, воспроизводимых и согласующихся между собой. Достоверность различий в сравниваемых группах опытов доказана путем использования современных методов математической статистики.

Таким образом, выше перечисленные и другие научные результаты исследований, имеющих в рассматриваемой диссертации, свидетельствуют о несомненной научно-практической значимости, выполненной работы.

В заключении, диссертантом подведены итоги научного исследования, в котором в сжатом виде обосновываются выводы. Выводы и практические рекомендации соответствуют задачам и в полной мере отражают результаты исследования. Содержание автореферата соответствует содержанию диссертации.

Публикация результатов исследования в научных изданиях

Основные результаты работы доложены и обсуждены на Всероссийских и Международной конференциях. По теме диссертации опубликовано 9 печатных работ, из них 3 работы в изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки

России для публикации результатов диссертационных исследований, 1 из которых в издании, входящем в международную цитатно-аналитическую базу данных Scopus.

Замечания к диссертационной работе.

Существенных недостатков у рассмотренной работы не обнаружено, однако к ней имеются отдельные частные замечания и пожелания.

1. В литературном обзоре подробно рассказано об протеолитических ферментах нервной ткани. В то же время не приводятся примеры взаимосвязи этих процессов с протеолитическими свойствами лимфоцитов.

2. В качестве маркера течения заболевания Альцгеймера были использованы так называемые полиморфноядерные лейкоциты. Известно, что в их состав входят: нейтрофилы - 40-70% от общего количества лейкоцитов, эозинофилы- 5% и базофилы. Каждый представитель выполняет свою особую роль. К сожалению, автор не уточнила, в каких видах лейкоцитов преимущественно происходят все описанные изменения.

3. Помимо изолированной оценки уровня веществ низкой и средней молекулярной массы в плазме крови возможно определение их концентрации в эритроцитах, моче пациентов. Также возможно определение лейкоцитарного индекса эндогенной интоксикации. Почему в работе рассматривается только уровень ВНиСММ в плазме крови?

4. Описывая изменения маркеров окислительного повреждения белков у пациентов с болезнью Альцгеймера, а также наличие корреляций лизосомальных ферментов с уровнем карбонильных производных модифицированных белков иногда трудно понять, о каких клеточных структурах идет речь – нервных клетках или лейкоцитах (стр. 92-93).

5. Результаты, представленные в таблице 9 на стр.77, можно было бы представить графическим способом для большей наглядности.

6. В некоторых местах диссертации утверждаются наличие фактов, хотя они никем не доказаны, см. образец: «Однако эндогенная интоксикация – процесс, неразрывно связанный с изменениями лизосомального протеолиза и нарастанием

окислительного стресса, которые, «без сомнений», наблюдаются при болезни Альцгеймера.

7. Автор работы утверждает, что болезнь Альцгеймера ассоциирована с нарастанием активности цистеиновых катепсинов в плазме, полиморфноядерных и моноядерных лейкоцитах периферической крови, что может рассматриваться как один из возможных маркеров развития и диагностики заболевания.

В этой связи, хотелось бы получить более обоснованные утверждения о биохимических механизмах «вовлечения клеток крови в патогенетические процессы, происходящие в организме пациентов с болезнью Альцгеймера. В этом случае достоверность диагностического приема, предлагаемого автором исследования получила бы еще большую практическую значимость.

8. Восприятие содержания работы было бы намного приятнее, если бы отсутствовали сокращения. Особенно в разделе «заключение», в котором подводятся главные итоги научного исследования.

9. Некоторые таблицы разорваны по страницам, что ухудшает восприятие экспериментального материала. Табл. 1, 2.5, 6,8.

10. Совсем лишним было включить в раздел «заключение» описание всех методик. Они достаточно полно описаны в разделе «Материалы и методы исследования». Достаточно было бы сообщить о том, что были использованы современные методы исследования, широко применяемые в биохимических исследованиях.

Сделанные замечания, однако, не снижают, в целом, положительной оценки рецензируемой диссертации.

Считаем, что основные положения диссертационного исследования могут быть использованы в преподавании учебных курсов: биохимии, патофизиологии, кафедр клинических дисциплин, в частности, неврологии, психиатрии и др.

Заключение

Диссертация Енгальчевой Марии Германовны полностью соответствует критериям, установленным п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24

сентября 2013 г. № 842. По актуальности выбранной темы и новизне полученных результатов, их значению для дальнейших исследований диссертационная работа удовлетворяет требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Енгальчева Мария Германовна, несомненно, заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

Диссертация и отзыв на диссертацию Енгальчевой Марии Германовны обсуждены на расширенном заседании кафедры биохимии (протокол № 13 от «25» июня 2021г.) ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России.

Заведующий кафедрой биохимии

ФГБОУ ВО ВГМУ

им. Н.Н. Бурденко Минздрава России

д.м.н., проф.



Алабовский В.В.

Контактная информация:

394036, Воронежская область,

г. Воронеж, улица Студенческая, д. 10

Телефон: 8 (473) 259-89-90

e-mail: mail@vrngmu.ru

Подпись д.м.н., проф. В.В. Алабовского ЗАВЕРЯЮ

«31»



2021г. Начальник управления кадров ВГМУ



Скорынин С.И.