

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора Бутолина Евгения Германовича
на диссертационную работу Шодиева Дмитрия Рахимовича на тему:
«Изучение метаболизма костно-хрящевой ткани при метаболическом
фенотипе остеоартроза и возможности его коррекции», представленную в
диссертационный совет 21.2.060.02 при ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава
России на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по
специальности 1.5.4. Биохимия.

Актуальность темы исследования

Хроническое поражение суставов и вовлечение всего синовиального окружения, включая дефекты гиалинового хряща, потерю неповрежденной субхондральной кости, гипертрофию тканей, увеличение васкуляризации в синовиальной оболочке, а также нестабильность сухожилий и связок являются характерными особенностями для остеоартроза (ОА).

Прогнозируется, что распространенность заболевания будет увеличиваться по мере роста продолжительности жизни населения, а поскольку старение влияет на прогрессирование патологии, то с возрастом медико-социальные последствия становятся более серьезными.

К основным препятствиям на пути решения проблемы лечения ОА можно отнести гетерогенность заболевания и вовлеченность в патогенез различных механизмов, приводящие к неудовлетворительным терапевтическим исходам.

Современный подход к выделению эндотипов заболевания находит свой отклик в различных нозологических классификациях, поскольку понимание конкретных этиологических факторов позволяет сформировать адекватный подход к диагностике. В свою очередь, это позволит проводить лечение для конкретных подгрупп с точки зрения персонализированной медицины и, в

конечном итоге, выявить более эффективные методы воздействия на развитие заболевания.

Особенность метаболического фенотипа остеоартроза заключается в хроническом системном воспалении, инициируемое избыточной жировой тканью, что активирует цепь каскадов биохимических и патофизиологических процессов, способствуя прогрессированию дегенеративных и воспалительных изменений в суставе.

Нарушение метаболического равновесия механизмами, запускаемыми медиаторами воспаления и катаболическими ферментами, приводят к изменению клеточного микроокружения и переключению энергетического метаболизма клетки. Следствием дисфункции митохондрий является нарушение выработки АТФ, что влияет на синтез внутри- и внеклеточных белков. Было показано, что сукцинат и его рецептор являются не только важными элементами энергетического метаболизма, но и действуют как регуляторы в процессах, связанных с гипоксией и воспалением.

В свою очередь, основной контроль метаболизма костно-хрящевой ткани отводится эндо- и аутокринной регуляции, где определенное место отводится гормону шишковидной железы – мелатонину, со множеством метаболических эффектов, играющих важнейшую роль в поддержании гормонально-метаболического гомеостаза костно-хрящевой ткани. Современные экспериментальные доказательства его хондро- и остеогенной активности позволяют рассматривать мелатонин в качестве потенциального лекарственного средства при различных видах костно-суставной патологии.

Таким образом, изучение метаболического фенотипа ОА определяет современность, научную и практическую значимость проблемы, на решение которой направлено диссертационное исследование Шодиева Дмитрия Рахимовича, а полученные результаты вносят существенный вклад в понимание метаболического фенотипа ОА.

Анализ решенных задач

В ходе диссертационного исследования автором поставлена цель - изучить метаболизм костно-хрящевой ткани при метаболическом фенотипе ОА *in vivo* и *in vitro*, а также оценить возможности его коррекции мелатонином.

Для реализации поставленной цели автор выделил несколько задач, на решение которых отводилось несколько фаз исследования.

В клинической фазе работы была поставлена задача оценить в целом активность костно-хрящевого метаболизма, используя наиболее доступные и показательные маркеры, а также выраженность окислительного стресса в сыворотке крови. Было выявлено, что у пациентов с метаболическим фенотипом остеоартроза имеются нарушения ночной секреции гормона шишковидной железы мелатонина, ухудшение качества и количества сна, что коррелировало с неудовлетворенностью качеством жизни, низкой функциональностью.

На основе первично выявленных изменений было оценено влияние экзогенного мелатонина на измененные клиничко-биохимические показатели пациентов с метаболическим фенотипом остеоартроза, что показало остеогенную и метаболическую активность препарата в схеме консервативного лечения.

На следующем этапе автором оценивался окислительный статус в различных по нагрузке зонах сустава, а выявленные изменения на основе литературных данных позволили рассмотреть сукцинат-рецепторную систему в качестве нового патогенетического подхода в поддержании последствий окислительного стресса. Выяснено, что в гомогенатах костно-хрящевой ткани различных зон сустава отмечается повышение компонентов сукцинатной системы, аналогичное тому, как повышаются его уровни в условиях окислительного стресса на клеточной линии хондроцитов метаболического фенотипа ОА в условиях *in vitro*.

Успешное решение в ходе выполнения диссертационной работы поставленных соискателем задач позволили реализовать цель исследования и сформулировать обоснованные выводы.

Анализ научной новизны и достоверности результатов исследования

Научная новизна представленной работы обусловлена пополнением знаний об остеоартрозе как о заболевании с гетерогенным набором патогенетических путей. Автором впервые выявлено, что у пациентов метаболического фенотипа ОА с выраженными показателями клинических проявлений ОА наблюдались более активные процессы ремоделирования костной ткани. Изучаемый фенотип заболевания характеризуется повышением карбонилированных производных белков как в сыворотке крови, так и в различных зонах костно-хрящевой ткани, что послужило одной из причин ингибирования активности ферментативного звена антиоксидантной защиты и сниженной активности резервно-адаптационного потенциала и супероксиддисмутазы сыворотки крови.

С целью коррекции выявленных изменения добавление в схему лечения метаболического фенотипа ОА препарата мелатонина было связано с уменьшением процессов костного ремоделирования, улучшением качества сна и положительной динамикой клинического течения ОА по целому ряду клинических шкал.

В ходе исследования выявлено, что у пациентов с метаболическим фенотипом ОА наблюдается высокий уровень SUCNR1 и его лиганда сукцината в тканях сустава с преимущественным увеличением количества SUCNR1 в субхондральной зоне кости как потенциального звена в поддержании патологических процессов.

Впервые методом иммуноцитохимии была выявлена выраженная иммунопозитивная реакция мембран клеток хондроцитов метаболического фенотипа ОА с антителами на SUCNR1, что подтверждает наличие рецептора в них и обосновывает дальнейшее изучение сукцинатной системы.

Автором было показано, что окислительный стресс, моделируемый путем добавления в клеточную среду хондроцитов метаболического фенотипа ОА человека H_2O_2 в конечной концентрации 200 мкМ, приводил к увеличению уровня SUCNR1 и повышению количества сукцината в клетках.

Впервые выявлено, что предварительная инкубация клеток хондроцитов метаболического фенотипа ОА человека с мелатонином в дозировках в 100 и 500 мкМ ограничивала перекисно-индуцированное накопление сукцината и снижала экспрессию SUCNR1 в клетках.

Научные положения и выводы диссертационной работы хорошо аргументированы и существенно дополняют современные представления о метаболическом фенотипе остеоартроза и роли сукцинатной системы.

Анализ теоретической и практической значимости работы

Представленные в работе данные носят как теоретический, так и практический характер. Клиническая часть исследования позволила выявить сомнологические нарушения у пациентов исследуемой выборки, что может объясняться сниженной секрецией ночной порции гормона шишковидной железы мелатонина. Автором показано, что метаболический фенотип остеоартроза сопровождается не только активными процессами ремоделирования костной ткани, но и системным окислительным стрессом.

С практической точки зрения автор рассмотрел мелатонин как компонент консервативного лечения метаболического фенотипа ОА, что позволило показать гиполипидемическую активность препарата и его направленность на процессы костного ремоделирования.

Увеличение уровня сукцинатной системы как в гомогенатах костно-хрящевой ткани, так и в хондроцитах метаболического фенотипа ОА в условиях окислительного стресса позволяет сделать вывод о том, что нарушение данной системы при метаболическом фенотипе ОА связано с воздействием окислительного стресса. В свою очередь, полученные

клинические и экспериментальные данные имеют ключевое значение для понимания механизмов повреждения тканей при данном заболевании.

Полученные результаты подчеркивают важность дальнейшего исследования взаимосвязи между окислительным стрессом и сукцинат-рецепторной системой в контексте метаболического фенотипа ОА и открывает новые пути для разработки терапевтических стратегий и улучшения понимания патогенеза заболевания.

Объем и структура работы

Диссертационная работа включает в себя следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследования и обсуждение, заключение, выводы, практические рекомендации, список сокращений, список литературы. Диссертация изложена на 135 страницах и иллюстрирована 23 рисунками и 13 таблицами. Список литературы представлен 255 источниками.

Во введении всесторонне представлен современный подход к фенотипированию остеоартроза, при этом актуальность и степень проработанности рассматриваемой проблемы автором свидетельствуют о глубоком понимании автором процессов, происходящих при остеоартрозе. Это, в свою очередь, дало возможность четко определить цель и задачи исследования. Научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, а также обоснованность выносимых на защиту положений не вызывают сомнений.

Анализ глав диссертации. В первой главе подробно изложен современный подход к фенотипированию остеоартроза, обсуждены современные представления о патогенезе ОА, регуляции митохондриального метаболизма в условиях костно-суставной патологии. Автором достаточно глубоко обсуждаются компоненты сукцинат-рецепторной системы и их роль в функционировании клетки, охарактеризованы основные свойства мелатонина и возможность его применения не только в условиях эксперимента, но и в клинической практике.

Во второй главе содержится подробное описание материалов и методов исследования, а так же клиническая характеристика групп пациентов. Работа была выполнена на биологическом и клиническом материале, полученных от 95 пациентов и клеточной линии хондроцитов метаболического фенотипа ОА. Биологическим материалом исследования служили сыворотка крови, гомогенаты костно-хрящевой ткани и лизаты клеток хондроцитов. Получение гомогенатов костно-хрящевой ткани проводилось согласно апробированным протоколам, культивирование клеточной линии осуществлялось согласно протоколу лаборатории клеточных технологий НИИ «Институт биологии развития имени Н. К. Кольцова».

Все данные, полученные в ходе выполнения диссертационной работы, были подвергнуты необходимой и адекватной статистической обработке с использованием пакета программного обеспечения, что не вызывает сомнения в достоверности полученных результатов.

В третьей главе представлены уровни маркеров и показатели активности ферментов костно-хрящевого метаболизма, ферментов, участвующих в энергетическом обмене и антиоксидантной защите, а также маркеров окислительного повреждения белков в биологических материалах. Приводятся данные о распределении компонентов сукцинат-рецепторной системы в костно-хрящевой ткани и изменении уровня сукцината и его рецептора в хондроцитах метаболического фенотипа остеоартроза в условиях окислительного стресса. Проведена визуализация сукцинатного рецептора на поверхности клеток. Последовательно обсуждаются выявленные клинико-биохимические изменения и результаты применения мелатонина в схеме консервативного лечения. В этой же главе обсуждаются возможные причины обнаруженных изменений.

Успешное решение всех поставленных в ходе выполнения работы задач позволили реализовать цель исследования и прийти к обоснованным выводам, которые логически вытекают из анализа полученных результатов исследования.

Замечания по диссертации

В работе встречаются отдельные опечатки, неудачные выражения. На странице 63 в разделе «Определение локализации сукцинатного рецептора»... после культивирования клетки фиксировали охлажденным до -200С метанолом. В данном случае речь, вероятно, идет о -20С. Тем не менее, принципиальных замечаний нет, однако возникли вопросы, которые не влияют на общую положительную оценку работы.

1. Известно, что в механизмах регуляции экспрессии генов в развитии остеоартроза играют роль т.н. сиртуиновые белки (SIRT6). Каковы физико-химические свойства этих белков?

2. Ремоделирование кости – это замена на вновь образованную кость «костный оборот». В этом процессе участвуют не только минеральный компонент кости, но и органическая составляющая: коллаген, преимущественно II типа, гликозаминогликаны, протеогликаны (агреган). В то же время Вы говорите о ремоделировании кости без исследования компонентов органического матрикса. Насколько это правомочно?

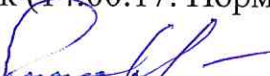
3. Каков возможный механизм нормализации измененных показателей липидного спектра сыворотки крови при остеоартрозе под действием мелатонина?

Заключение

Диссертация «Изучение метаболизма костно-хрящевой ткани при метаболическом фенотипе остеоартроза и возможности его коррекции» Шодиева Дмитрия Рахимовича, представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является законченной научно-квалификационной работой и содержит решение научной задачи: выявление особенностей распределения компонентов сукцинат-рецепторной системы при метаболическом фенотипе остеоартроза *in vivo* и *in vitro* и возможности коррекции клинико-биохимических изменений под действием гормона эпифиза – мелатонина, имеющей большое значение для развития

современной науки.

Диссертация соответствует всем требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842, с изм. утв. 21.04.2016 № 335, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Шодиев Дмитрий Рахимович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

И.о. заведующего кафедрой клинической
биохимии и лабораторной диагностики ФПК и ПП
Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Ижевская государственная медицинская академия»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
доктор медицинских наук (14.00.17. Нормальная физиология),
профессор  Бутолин Евгений Германович

«28» февраля 2025 г.

Подпись д.м.н., профессора Е.Г. Бутолина, заверяю

Ученый секретарь Ученого совета

ФГБОУ ВО ИГМА, д.м.н., доцент



С.А. Лукина

426034, Российская Федерация, Удмуртская Республика, г. Ижевск, ул. Коммунаров, 281
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Контактные телефоны: +7 (3412) 52-62-01, +7 (3412) 65-82-68

Факс: 8 (3412) 65-81-67

Адреса электронной почты: rector@igma.udm.ru, ur@igma.udm.ru