

**« УТВЕРЖДАЮ»**

Проректор МГУ имени М.В.

Ломоносова,



профессор А.А. Федянин

« 5 » ноября 2023 г.

### **ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ**

**Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»**

**о научно-практической ценности диссертационной работы  
Труш Веры Владимировны «Закономерности влияния  
глюкокортикоидов на функциональное состояние нервно-мышечного  
аппарата крыс и пути компенсации их повреждающих эффектов»,  
представленной к защите на соискание  
ученой степени доктора биологических наук  
по специальности 1.5.5 – Физиология человека и животных**

**Актуальность темы исследования.** Диссертация В.В. Труш посвящена актуальной проблеме – выяснению физиологических и патофизиологических механизмов действия кортикостероидов на нервно-мышечный аппарат, включая его нейронный, синаптический и собственно мышечный уровень. Несмотря на многолетнюю историю изучения проблемы гиперкортицизма и кортикостероидных миопатий, попытки охватить весь спектр воздействий кортикостероидов на скелетную мускулатуру и двигательную активность – с учетом разных сроков действия и возможных мишеней – остаются недостаточными. Это связано с хорошо известной многоликостью эффектов стероидных гормонов как на уровне всего организма, его органов, так и на молекулярно-геномном уровне клеток разных типов. В результате, современные данные об однократных и длительно применяемых дозах воздействия кортикостероидов на нервно-

мышечный аппарат остаются противоречивыми и недостаточными. Доступная сегодня литература свидетельствует о сложности и многообразии нарушений нервно-мышечного аппарата под влиянием терапевтических доз глюкокортикоидов, и при этом оставляет не решенным вопрос о динамике развития этих нарушений, клеточных и субклеточных механизмах и мишенях действия кортикостероидов в мышцах и моторных синапсах, и наконец – об эффективных способах коррекции наблюдаемой кортикостероидной миопатии.

Учитывая тот факт, что проявления миопатии и мышечной атрофии на разных этапах развития гиперкортицизма могут быть обусловлены активацией разных мишеней и сигнальных путей, в данной работе впервые поставлена сложная и объемная задача – детализировать динамику развития структурно-функциональных сдвигов в мышцах и их синапсах при остром и хроническом режимах воздействий кортикостероидов, выявить сопутствующие патогенетические механизмы и затем попытаться найти новые способы коррекции выявленных кортикостероидных миопатий.

Постановка таких объемных целей в диссертации В.В. Труш делает работу чрезвычайно актуальной и востребованной как с фундаментальной, так и практической, клинической точки зрения.

**Структура диссертации, соответствие специальности.** Диссертация построена по традиционному для научных работ типу, изложена на 494 страницах печатного текста и выполнена по общепринятому для научных работ плану. Она включает введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, 7 глав с изложением результатов собственных исследований и их обсуждением, заключение, выводы, практические рекомендации, списки условных сокращений и использованной литературы. Работа иллюстрирована 136 рисунками и содержит 129 таблиц. Библиографический указатель включает 981 источник (229 кириллицей и 752 латиницей).

В обзоре литературы (раздел 1) приведены современные сведения о механизмах действия и эффектах физиологических и терапевтических доз глюкокортикоидов в животном организме, патогенезе нервно-мышечных

расстройств при гиперкортицизме и существующих экспериментальных подходах к компенсации стероидной миопатии. В обзоре дан критический анализ литературы, сформулированы нерешенные вопросы, требующие изучения и свидетельствующие об актуальности поставленных в настоящей диссертационной работе задач.

Раздел 2 посвящен материалам и методам исследования. Обоснован выбор крыс в качестве объекта исследования, даны четкий дизайн исследования, описание основных этапов эксперимента, используемых методов исследования и подходов, используемых в ходе острого опыта для оценки функционального состояния периферического звена нервно-мышечного аппарата, описаны применяемые в работе статистические методы анализа экспериментального материала.

В разделе 3 приводятся основные результаты исследований с их обсуждением. Раздел включает 7 глав, в первой из которых рассматриваются особенности эффектов однократно и длительно вводимых терапевтических доз естественного и синтетического глюкокортикоидов на периферическое звено нервно-мышечного аппарата. В главе 2 приводятся полученные автором данные о функциональных изменениях в исследуемой передней большеберцовой мышце крыс при однократном и хроническом введении двух разных кортикостероидов – гидрокортизона и дексаметазона. Тем самым воссоздается временная динамика развития гиперкортицизма в ответ на продолжительное введение двух разных стероидов. В главах 3-6 приводятся данные относительно эффективности изученных средств – альфакальцидола, антиоксидантов (таурина и  $\alpha$ -липоевой кислоты), селективного  $\beta_2$ -адреноагониста формотерола, аргинина и умеренной физической нагрузки динамического характера, применяемых по отдельности и в комплексе, – для компенсации дифференцированных проявлений стероидной миопатии, вызываемых дексаметазоном на разных сроках его введения. В главе 7 дается сравнительный анализ эффективности используемых средств в компенсации повреждающих эффектов

дексаметазона на периферическое звено нервно-мышечного аппарата. В результатах, на основании данных последних глав автором сформулированы практические рекомендации о возможных способах компенсации стероидной миопатии, вызванной дексаметазоном.

В главе «Заключение» диссертации приведена интегральная оценка функциональных изменений в периферическом звене нервно-мышечного аппарата под влиянием одно- и многократно вводимых доз глюкокортикоидов, а также оценка эффективности используемых средств в компенсации стероидной миопатии, подведен итог проведенной работы, обобщены результаты исследования.

Выводы диссертационной работы полностью вытекают из поставленных задач и соответствуют полученным результатам. Практические рекомендации логично следуют из содержания диссертации и определяют конкретные пути для их реализации на практике.

Задачи, поставленные в работе, получили адекватное разрешение в полученных результатах. Основные положения, выносимые на защиту, отражают научную значимость результатов диссертационного исследования.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации. Принципиальных замечаний к нему нет.

**Научная новизна** диссертационной работы не вызывает сомнений.

В работе В.В. Труш получены новые данные о сроках, характере и механизмах функциональных изменений и в скелетной мышце, и в моторных синапсах под влиянием однократных и многократных доз двух глюкокортикоидов.

Наряду с определенным сходством, впервые установлены отличия во влияниях однократных доз естественного и синтетического глюкокортикоидов на одну и ту же скелетную мышцу: на фоне гидрокортизона – краткосрочное снижение КПД мышечного сокращения при положительном эрготропном эффекте (спустя 1 час после введения) и повышение работоспособности мышцы, спустя 24 часа после введения, тогда

как на фоне дексаметазона – более продолжительное *уменьшение КПД* – от 1-го до 24-х часов – и снижение работоспособности мышцы, которое сохраняется даже спустя сутки после введения препарата.

В работе впервые выявлен и подробно описан несовпадающий паттерн динамики сдвигов, исследуемых электрических, биохимических, эрготропных параметров мышц при хроническом действии дексаметазона, вводимого в дозе, адекватной умеренной терапевтической для человека.

Впервые показано, что на начальных этапах (в первые 10 дней), уменьшение массы мышцы и сдвиги метаболизма мышцы в оксидативную сторону, не приводят к ухудшению электрофизиологических и эргометрических показателей мышцы. Но такие нарушения выявляются позже, – спустя 30 дней от начала введения дексаметазона.

Получены новые факты описывающие, как и когда в генезе функциональных нарушений скелетной мышцы при гиперкортицизме – наряду с мышечными, – участвуют и нейропатические и синаптические расстройства.

Таким образом впервые определены наиболее ранние характерные изменения нервно-мышечных параметров, которые целесообразно учитывать при диагностике самых ранних этапов развития гиперкортицизма (утомляемость, снижение работоспособности мышцы).

Наконец, впервые выявлен срок максимального снижения работоспособности (2 месяца введения дексаметазона), вслед за которым происходит определенная адаптация и частичное восстановление работоспособности. В работе впервые показано, что это обусловлено не столько улучшением функционального состояния отдельных мышечных волокон, сколько перестройкой и увеличением плотности двигательных единиц мышцы.

#### **Достоверность результатов проведенных исследований.**

Научные положения, сформулированные диссертантом, выводы и практические рекомендации основаны на современных методологических

подходах, используемых в физиологии. Выводы и практические рекомендации достоверны, подтверждены обоснованным выбором информативных методов исследования и достаточным статистическим материалом, вытекают из основных положений диссертационной работы.

### **Теоретическая и практическая значимость работы.**

Теоретическая значимость работы В.В. Труш для фундаментальной нервно-мышечной физиологии и патофизиологии заключается в раскрытии особенностей функциональных изменений в скелетной мышце и моторных синапсах под влиянием одно- и многократных доз естественного и синтетического глюкокортикоидов, а также в выявлении сложной динамики развития гиперкортицизма с точки зрения сопровождающих его сдвигов функциональных параметров нервно-мышечного аппарата. Совокупность полученных в работе В.В. Труш данных расширяет теоретические представления относительно механизмов действия кортикостероидов. В частности, раскрыты различия в механизмах, свойственных природным и синтетическим кортикостероидам при индукции ими специфических кратко- и долговременных функциональных изменений на уровне нервно-мышечного аппарата, включая собственно мышцы, нервно-мышечные синапсы и синаптическую передачу.

Наряду с общенаучной, теоретической значимостью работы, большое значение имеют данные, полученные по выявлению препаратов и условий функционирования мышц, способствующих коррекции гиперкортицизма.

Сделанные автором рекомендации по использованию соответствующих средств для профилактики стероидной миопатии имеют большое практическое значение для клиники стероидных расстройств.

На основании результатов о высокой (сравнимой с таковой  $\beta_2$ -адреноагониста формотерола) эффективности аргинина, таурина и  $\alpha$ -липоевой кислоты для компенсации дексаметазон-индуцированных расстройств скелетной мышцы смешанного типа (*m. tibialis anterior*) автором обоснована возможность их использования для профилактики стероидной

миопатии. Подана заявка на патент «Способ коррекции стероидной миопатии в модельных экспериментах на животных», № заявки 2022125635), содержание которого может иметь практическое применение в доклинических исследованиях способов компенсации миопатий различного генеза. Чрезвычайно актуальными являются также полученные автором данные о возможности и необходимости использования физической нагрузки как самостоятельного эффективного фактора, способствующего коррекции нервно-мышечных расстройств при гиперкортицизме.

Полученные в диссертации данные внедрены в учебный процесс в образовательных учреждениях медико-биологического профиля, а также используются в научной работе Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Донецкий государственный медицинский университет им. М. Горького».

#### **Обоснованность использованных методов.**

Методология диссертационного исследования В.В. Труш основывалась на использовании большого комплекса методов и приемов, давших возможность решить поставленные в работе цели и задачи. Были использованы сравнительно-аналитический и модельный подходы. Проведен сравнительный анализ срочных и долговременных воздействий двух глюкокортикоидов, применяемых изолированно и в комбинации с определенными факторами, потенциально способными компенсировать повреждающие эффекты глюкокортикоидов, на конкретные функциональные параметры периферического звена нервно-мышечного аппарата.

Аналитический подход заключался также в комплексной оценке функционального состояния периферического звена нервно-мышечного аппарата на основании суммы исследованных параметров (электрофизиологических, сократительных и эргометрических) при различных функциональных состояниях животного организма. При этом экспериментальные исследования были выполнены с использованием достаточного объема выборки лабораторных животных, а статистическая

обработка экспериментального материала проводилась с использованием адекватных взаимодополняющих статистических методов (двухвыборочный t-тест Стьюдента для выборок с различными дисперсиями, W-тест Шапиро-Уилка, U-критерий Манна-Уитни, двухвыборочный F-тест для дисперсий, регрессионный и корреляционный анализ).

Модельный подход состоял в экспериментальном моделировании гиперкортицизма и оценке функционального состояния нервно-мышечного аппарата в динамике его развития.

**Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах, личный вклад, апробация результатов работы.**

Основные результаты диссертации изложены в 63 работах, в том числе *32 статьях в научных журналах, рекомендованных ВАК* Министерства науки и высшего образования Российской Федерации для публикации материалов диссертаций (из них 10 – в журналах, входящих в перечень международных реферативных баз данных и систем цитирования), и 31 публикации – в других журналах и сборниках научных работ. А также представлены и обсуждены на 16 международных конференциях.

Личное участие автора заключалось в разработке методологии проведения исследований и непосредственном проведении экспериментов, самостоятельном написании критического обзора литературы, определении направления научного исследования, постановке цели и задач работы, определении методологических подходов, а также самостоятельном проведении экспериментальных исследований, их анализе, статистической обработке и систематизации полученных данных, разработке основных положений диссертационного исследования, обосновании научных выводов и рекомендаций для научного и практического использования полученных данных. Автором разработан новый подход к патогенетической коррекции стероидной миопатии.

**Рекомендации по использованию результатов и выводов**



Полученные в диссертации В.В. Труш данные представляют большой научный интерес для специалистов и научных сообществ в области нервно-мышечной синаптической физиологии, патофизиологии мышц и моторных синапсов, эндокринологии, в частности, в таких учреждениях как кафедра физиологии человека и животных Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова, г. Москва, кафедра общей физиологии (Санкт-Петербургский государственный университет, биологический факультет, г. Санкт-Петербург), отдел общей патологии (НИИ общей патологии и патофизиологии, г. Москва), кафедра нормальной физиологии (Казанский государственный медицинский университет, г. Казань), НМИЦ эндокринологии Минздрава РФ, г. Москва, Миастенический центр, Лечебный корпус ГКБ N 51, г. Москва.

Результаты диссертации могут быть также рекомендованы для использования при чтении курсов лекций по частной патофизиологии, патофизиологии эндокринной системы и нервно-мышечного аппарата, на практикумах по физиологии, а также в лекциях по синаптической физиологии на кафедрах «нормальной физиологии» биологических и медицинских ВУЗов.

#### **Вопросы, замечания.**

В ходе ознакомления и изучения разделов диссертационной работы возникли следующие вопросы и замечания:

1. В работе выявлен факт разных по продолжительности и иногда противоположно направленных воздействий на нервно-мышечные параметры двух стероидов – гидрокортизона и дексаметазона при остром и хроническом введении. Это неизбежно порождает вопрос о возможных причинах этих различий. Важно прояснить, могут ли и в какой мере (помимо других причин) эти различия быть связаны с:

а) описанной в литературе большей эффективностью и продолжительностью воздействия дексаметазона по сравнению с гидрокортизоном на глюкокортикоидные рецепторы мышц, б) отсутствием

способности дексаметазона (в отличие от гидрокортизона) активировать минералокортикоидные рецепторы скелетных мышц, влияющие на силу и выносливость мышц?

2. Автор подробно обосновывает правомочность переноса терапевтических доз глюкокортикоидов, используемых у человека, на исследования у крыс. И все-таки нельзя исключить, что выбранное соотношение доз (для сравнения эффектов этих стероидов) – 2 мг/кг и 50 мг/кг, при их однократном введении может не обеспечивать равноэффективную активацию разными стероидами одного и того же пула глюкокортикоидных рецепторов бедренной мышцы, а, следовательно, быть одной из наиболее простых причин различий наблюдаемых эффектов у двух стероидов.

3. Автор не обсуждает вопрос о том, следует ли, и - как, учитывать возможность кумулятивного эффекта стероидов и возрастания их действующих концентраций по мере хронического – двухмесячного введения, которые могли бы быть одной из причин время-дозо-зависимого усиления выраженности и спектра повреждающих воздействий глюкокортикоидов на мышечные параметры?

4. Подавляющая часть диссертационной работы выполнена на одной – бедренной мышце крысы (*m. tibialis anterior*), содержащей преимущественно быстрый гликолитический тип волокон. Можно ли выявленные специфические эффекты системного введения дексаметазона (в частности, сдвиг в сторону окислительного метаболизма, падение работоспособности мышцы) считать универсальным проявлением, присущим и другим типам мышц крысы при системном введении дексаметазона, и вообще – для всей скелетной мускулатуры?

5. Судя по обнаруженному автором отставанию сдвигов электрофизиологических параметров (падения амплитуды, роста латентного периода и длительности М-ответа) по сравнению с собственно сократительными параметрами (утомляемостью, работоспособностью

мышцы) возникает вопрос: можно ли синаптический аппарат (и передачу в нем) и электрогенные показатели синаптической передачи и мышечной активности, считать более устойчивыми к повреждающему действию дексаметазона и, соответственно – менее репрезентативными для диагностического тестирования проявлений ранних фаз гиперкортицизма в сравнении, например, с утомляемостью мышцы или энергетическими метаболическими сдвигами мышцы?

6. В связи с чрезвычайно интересным фактом, выявленным в работе – ведущей ролью мышечной нагрузки в коррекции дексаметазоновых миопатий возникает вопрос, какие, по мнению автора, из известных миокинов, высвобождаемых из мышц при мышечных нагрузках (это IGF1, BDNF, интерлейкин 6, миоканнабиноиды и другие) могут предположительно вносить реальный вклад в коррекцию дексаметазоновых миопатий при мышечной нагрузке?

Данные вопросы и замечания носят дискуссионный характер и никоим образом не умаляют достоинств и значимости представленной диссертационной работы.

### **Заключение**

Диссертационная работа Труш Веры Владимировны «Закономерности влияния глюкокортикоидов на функциональное состояние нервно-мышечного аппарата крыс и пути компенсации их повреждающих эффектов», представленная к защите на соискание учёной степени доктора биологических наук, является самостоятельным законченным научно-квалификационным исследованием, в котором решена актуальная научная проблема, имеющая важное теоретическое и практическое значение – определение спектра патогенетических нарушений и подходов к коррекции стероидной миопатии в модельных экспериментах на животных. На основании выполненных исследований разработаны теоретические положения, расширяющие современные представления о генезе и способах коррекции гиперкортицизма.

Представленная диссертационная работа полностью соответствует требованиям пунктов 9, 10, 11, 13, 14 Положения о порядке присуждения ученых степеней (Постановление правительства РФ от 24.09.2013 г. №842, с изменениями, внесенными постановлениями правительства РФ от 21.04.2016 г. №335, 01.10.2018 г. №1168, от 20.03.2021 г. №426), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор – Труш Вера Владимировна – заслуживает присуждения ей ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.5 – Физиология человека и животных.


Отзыв подготовлен профессором кафедры физиологии человека и животных, доктором биологических наук по специальности «Физиология», руководителем научной группы «Физиология нервно-мышечной синаптической передачи в норме и патологии» Балезиной Ольгой Петровной.

Отзыв обсужден и утвержден на заседании кафедры физиологии человека и животных МГУ, протокол N 11 от «23» октября 2023г.

И.О. заведующего кафедрой  
физиологии человека и животных МГУ,  
доктор биологических наук, профессор

  
/Д.В. Абрамочкин /

Профессор кафедры  
физиологии человека и животных МГУ,  
доктор биологических наук,  
профессор

  
/О.П. Балезина/

Подпись д.б.н., проф. Д.В. Абрамочкина и д.б.н., проф. О.П. Балезиной  
заверяю:

Заместитель декана  
по научной работе  
д.б.н., профессор



А.М. Рудков  
23.10.2023