

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Ветрового Олега Васильевича «**РОЛЬ NIF1-ЗАВИСИМОЙ РЕГУЛЯЦИИ ПЕНТОЗОФОСФАТНОГО ПУТИ В ОБЕСПЕЧЕНИИ РЕАКЦИЙ МОЗГА НА ГИПОКСИЮ**», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – Биохимия в диссертационном совете Д.212.232.10. по защите докторских и кандидатских диссертаций на базе Санкт-Петербургского государственного университета.

**Актуальность темы.** Диссертационная работа Олега Васильевича Ветрового посвящена актуальной проблеме физиологии и медицины – изучению механизмов метаболических перестроек мозга, лежащих в основе патологических и адаптивных реакций на гипоксию, а также выяснению причин и возможностей нейропротективного действия гипоксического посткондиционирования. Актуальность этой проблемы определяется также тем, что нарушение кислородного снабжения мозга рассматривается в настоящее время как ключевой фактор в развитии множества заболеваний и снижения качества жизни, а расшифровка эндогенных механизмов возникновения патологического состояния и выяснение путей коррекции или повышения резистентности мозга к повреждающим воздействиям является весьма важной задачей. При этом изучение механизмов патогенеза и разработка новых технологий их лечения невозможны без исследований, проводимых на экспериментальных животных моделях. Значительный вклад в решение этих проблем вносит работа О.В. Ветрового. В работе основное внимание обращено на роль гипоксия-индуцируемого фактора-1 (NIF1) в регуляции пентозофосфатного пути (ПФП) метаболизма глюкозы – основного источника кофермента никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДФ, NADP) в мозге и ключевого регулятора эффективности антиоксидантных систем мозга. Вместе с тем, вопрос о конкретной роли NIF1 в реализации эффектов тяжелых форм гипоксии остается открытым. Как справедливо отмечено в диссертации: поскольку опосредованная гипоксией гибель нейронов осуществляется с участием активных форм кислорода, изучение вопроса о возможной взаимосвязи между

гипоксией/реоксигенацией в различных режимах, ключевым регулятором клеточного ответа на гипоксию, HIF1, пентозофосфатным путем и опосредованными им функциями является крайне важным как для понимания эндогенных механизмов адаптации мозга, так и для разработки подходов к таргетной терапии постгипоксических состояний. Полученные результаты и сделанные выводы подтверждают правильность и важность проделанной работы.

**Целью** настоящего исследования явилось изучение молекулярных механизмов, лежащих в основе нейропротективного действия гипоксического посткондиционирования при компенсации последствий тяжелой гипоксии мозга крыс, и оценить роль HIF1 в реализации эффектов тяжелой гипоксии. Поставленные задачи работы соответствуют цели исследования, а полученные данные отличаются научной новизной.

**Научная новизна полученных данных.** Впервые установлено, что тяжелая гипоксия (ТГ) и последующая реоксигенация вызывает краткосрочную гиперэкспрессию регуляторной альфа субъединицы HIF1 в гиппокампе и индуцирует снижение количества и активности Г6ФДГ – первого скорость-лимитирующего фермента пентозофосфатного пути, а также количества НАДФН, что сопровождается окислительным стрессом и запуском процессов апоптотической клеточной гибели. В работе впервые установлено наличие в гиппокампе крыс обратной связи между активностью HIF1 и транскрипцией Г6ФДГ при проведении исследований с применением модели трехкратной умеренной гипобарической гипоксии.

Приоритетными являются результаты, доказывающие, что трехкратная умеренная гипоксия у крыс после тяжелой гипоксии, либо инъекция ингибитора HIF1 топотекана непосредственно перед ТГ предотвращают отсроченное уменьшение количества и активности Г6ФДГ, увеличивая уровень НАДФН, что сопровождается нормализацией окислительно-

восстановительного статуса и снижением свободнорадикального окисления в гиппокампе, а также предотвращением апоптотических процессов.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Диссертация О.В. Ветрового вносит существенный вклад в решение фундаментальной проблемы для выяснения механизмов и способов повышения резистентности мозга к неблагоприятным факторам. Выявленные в ходе исследования основные закономерности активации внутриклеточных молекулярных адаптивных механизмов, вызываемых гипоксическим посткондиционированием, имеют большое **теоретическое значение**. Полученные данные расширяют современные представления о молекулярно-биологических процессах, приводящих к развитию постгипоксических патологий, и способствуют пониманию механизмов антиапоптотического и антиоксидантного действия гипоксического посткондиционирования. Исследование О.В. Ветрового имеет и несомненную **практическую ценность**, открывая возможности для внедрения разработанного метода посткондиционирования умеренной гипобарической гипоксией в качестве немедикаментозного способа профилактики и лечения патологических последствий тяжелой гипоксии, при лечении инсультов и других патологий, вызванных кислородной недостаточностью.

Рукопись диссертационной работы О.В. Ветрового построена по традиционному плану и содержит разделы «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты и обсуждение», «Заключение» «Выводы», «Список сокращений». «Список литературы» включает 154 источников, из них 22 – отечественных. Диссертация изложена на 118 страницах. Результаты и обсуждение представлены на одной таблице и иллюстрированы 34 рисунками. Написана диссертация хорошим научным языком. К сожалению, в работе встречаются отдельные опечатки и жаргонные выражения. Стр. 7, 16, 47, 48, 100. Например: «...поддержание

процессивности систем утилизации АФК критично для реализации защитных функций» (стр. 47). Но это скорее исключение, чем правило.

Во Введении обосновывается актуальность выбранного направления исследования, формулируются цель и задачи исследования, а также положения, выносимые на защиту, новизна полученных экспериментальных данных, их теоретическое и практическое значение. Работа представлена компактной, четко структурированной, с ясными и понятными основными полученными результатами, положениями, выносимыми на защиту, и выводами.

Глава 2 (обзор литературы) диссертации О.В. Ветрового посвящена описанию современных представлений о молекулярно-клеточных механизмах, вовлекающихся в адаптивные и патологические реакции мозга, а также феномене посткондиционирования. В главе подробно и с глубоким знанием темы описываются понятие гипоксии и механизмах ее действия, известные механизмы и предполагаемые эффекторы нейропротекции, исследуемые в работе факторы и обосновывается необходимость их изучения для выполнения плана работы. Обзор написан хорошо и читается с интересом, логично приводит читателя к необходимости и важности постановки цели и задачи исследования. Есть, конечно, и спорные утверждения. Я, например, не понимаю выражение «умеренное экстремальное воздействие», хотя встречаю в работах некоторых научных групп. С моей точки зрения, воздействие может быть «экстремальным» или «умеренной силы», т.е. меньше экстремального.

Глава 3 содержит описание методов и подходов, использованных для решения поставленных задач, организации и условий проведения экспериментов, использованного оборудования и статистические подходы для обработки экспериментального материала. Следует отметить, что

методические приемы, использованные в работе, современны и адекватны поставленным задачам. Особую ценность исследованию придает применение оригинального подхода - гипоксического посткондиционирования трехкратной умеренной гипобарической гипоксии. Этот метод разработан в Институте физиологии и успешно использован в данной диссертационной работе. Богатый арсенал методов, которыми владеет автор, производит большое впечатление. Хотел бы я услышать мнение автора о том, насколько применяемые антитела при иммуногистохимических исследованиях были специфическими и проводился ли негативный контроль.

Следующая глава диссертации посвящена описанию результатов собственных исследований и их обсуждения, разделенных на несколько смысловых разделов. Результаты исследований подробно иллюстрированы рисунками. Работа выполнена на большом экспериментальном материале, полученные данные обработаны с применением адекватных методов количественного и статистического анализа, что делает их вполне достоверными. Описание результатов исследования квалифицированно обсуждается с привлечением современной научной литературы. Обобщаются все полученные данные, приводится их анализ, и этот раздел диссертации очень логично подводит к выводам, которые соответствуют цели и задачам исследования. Можно вполне согласиться с мнением автора представившего суммарную таблицу в Заключение работы. Однако, мне не хватает ее описания в динамике. Чисто структурная схема не совсем понятна, хотя и дает представление о проделанной работе.

**Выводы** отражают конкретные результаты работы, написаны компактно и ясно.

Основные результаты диссертационного исследования О.В. Ветрового широко освещены в научной печати и неоднократно обсуждались на



крупных всероссийских и международных конференциях. По теме диссертации опубликовано 7 научных печатных работ в российских и зарубежных журналах, рекомендованных ВАК РФ, а также 57 тезисов докладов.

В качестве дискуссии я бы хотел обсудить следующие особенности проведения экспериментов и интерпретацию полученных данных. В работе продемонстрирована негативная регуляция транскрипции фермента пентозофосфатного пути, глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы, транскрипционным фактором NIF1, а также показано, что использование ингибитора NIF предотвращает вызванное тяжелой гипоксией нарушение функционирования пентозофосфатного пути и окислительный стресс. Посткондиционирование также нормализует этот механизм, однако параллельно повышая и уровень NIF1. Какие NIF1-независимые механизмы потенциально могут лежать в основе этого эффекта посткондиционирования?

В целом диссертация Олега Васильевича Ветрового является завершенным исследованием. Совокупность полученных данных и сделанные на их основании обобщения имеют важное значение для понимания механизмов, обуславливающих формирование толерантности мозга к повреждающим воздействиям. Более того, результаты и выводы диссертационного исследования О.В. Ветрового существенно расширяют современные представления о механизмах возникновения нарушений центральной нервной системы при гипоксии/ишемии и возможностях применения гипоксического посткондиционирования в определенные сроки для повышения устойчивости мозга к повреждающим факторам.

**Автореферат диссертации и публикации** полностью отражают научную новизну и содержание работы.

**Заключение.** Принимая во внимание актуальность выполненной работы, обоснованность и научную новизну полученных данных, объективность основных положений и выводов, основанных на большом экспериментальном материале, а также их существенную теоретическую и практическую значимость для современной науки, значительный вклад представленного исследования в решение проблемы патогенеза и коррекции нарушений центральной нервной системы при гипоксии/ишемии, можно заключить, что диссертация Олега Васильевича Ветрового на тему «Роль NIF1-зависимой регуляции пентозофосфатного пути в обеспечении реакций мозга на гипоксию» является законченной научной квалификационной работой, соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание степени кандидата биологических наук (п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым ВАК к кандидатским диссертациям), а ее автор Олег Васильевич Ветровой заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 - Биохимия.

Заведующий лабораторией сравнительной физиологии  
и патологии центральной нервной системы  
Федерального государственного бюджетного  
учреждения науки Института эволюционной  
физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова  
Российской академии наук,  
доктор биологических наук,



И.А. Журавин

Санкт-Петербург, 194223, пр. Тореза, д. 44;  
тел.: +7(812) 552-31-66, моб. 8(921) 347-85-17  
[i-zhur@mail.ru](mailto:i-zhur@mail.ru)



Взять руки  
доверяю  
инициальной  
Федерального государственного бюджетного  
учреждения науки Института эволюционной  
физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова  
Российской академии наук

*И.А. Журавин*  
*И.А. Журавин*

09.04.2018