

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента – доктора биологических наук  
Белослудцева Константина Николаевича на диссертационную работу  
Астрахановой Татьяны Александровны на тему: «Механизмы BDNF-опосредованной  
адаптации нервной системы к действию гипоксии», представленную на соискание ученой  
степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – «Физиология»

### **Актуальность диссертационной работы**

Поиск соединений, способных контролировать метаболизм клеток головного мозга в условиях стресса, в том числе при гипоксии является важной задачей современной биологии и медицины. В рамках данной проблематики изучению молекул эндогенного происхождения отводится особенное значение, поскольку именно такие соединения корректируют работу организма, не оказывая явных побочных эффектов. К подобным соединениям можно отнести нейтрофины, в том числе нейротрофический фактор головного мозга (BDNF), которые регулируют развитие нервной системы и многочисленные молекулярно-биологические процессы, среди которых выделяют клеточную пролиферацию, выживаемость нейронов, дифференциацию аксонов, рост дендритов, синаптическую передачу. В литературе активно обсуждается вопрос о возможности использования нейротрофического фактора BDNF в качестве эффективного нейропротектора. Однако механизмы защитного действия BDNF как на функциональном, так и на метаболическом уровнях при повреждениях различной природы в настоящее время полностью не раскрыты.

Диссертационная работа Астрахановой Т.А. посвящена исследованию процессов влияния нейротрофического фактора BDNF на устойчивость животных к гипоксии и определение механизмов данной устойчивости. Таким образом, актуальность диссертационного исследования Астрахановой Т.А. не вызывает сомнений. Понимание исключительной роли BDNF в процессах адаптации нервной системы при воздействии стресс-факторов открывает целый ряд потенциальных возможностей для терапевтического воздействия на нейронные сети головного мозга.

### **Научная новизна работы**

В работе впервые выполнено комплексное исследование особенностей антигипоксического действия нейротрофического фактора BDNF на функционирование митохондрий клеток головного мозга. В связи с этим научная новизна диссертационной работы Астрахановой Т.А. связана с тем, что был предложен механизм антигипоксического действия нейротрофического фактора BDNF, опосредованный функционированием митохондрий клеток головного мозга.

## **Структура диссертации**

Диссертация Астрахановой Т.А. построена по традиционному плану и включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, изложение результатов и их обсуждение, заключение, выводы и список цитируемой литературы. Работа изложена на 102 страницах, содержит 42 рисунка и 4 таблиц. В списке процитированной литературы указан 101 источник.

В разделе **«Введение»** автор обосновывает актуальность изучаемой темы, формирует цель и задачи работы, характеризует научную новизну, теоретическую и практическую значимость результатов исследования, определяет научные положения, выносимые на защиту, приводит данные, где работа была апробирована и опубликована.

В **главе 1 «Обзор литературы»** автор попытался дать представления о современных научных проблемах в изучаемой автором области. Данную главу можно разделить на три части: 1) описание строения нейротрофического фактора BDNF, 2) особенностей его влияния на метаболические процессы в клетке при различных патологиях нервной системы 3) анализ данных о гипоксии и ее действие на энергетический метаболизм клетки.

**Глава 2** содержит информацию о **материалах и методах исследования**, приводится подробное исчерпывающее описание всех методик, в том числе приведены схемы экспериментов. Методы полностью адекватны поставленным задачам исследования. Важно отметить, что работа сделана на очень высоком методическом уровне. Используется большой спектр методов современной физиологии, клеточной и молекулярной биологии, биофизики и биохимии.

**Глава 3 «Результаты исследования и их обсуждение»** состоит из 6 разделов. В **разделе 3.1** обсуждаются результаты исследования влияния острой гипобарической гипоксии (ОГБГ) на функциональное состояние митохондрий головного мозга. Астрахановой Т.А. была продемонстрирована взаимосвязь между уровнем BDNF6 устойчивостью животных к гипоксии и функционированием митохондрий мозга у животных, обладающих различной устойчивостью.

В **разделе 3.2** проведен анализ влияния нейротрофического фактора BDNF на функциональное состояние митохондрий. Диссертант ставит целью проверить гипотезу – опосредовано ли действие BDNF на дыхательную цепь митохондрий взаимодействием нейротрофина с TrkB-рецептором. Показано, что введение мышам BDNF перед эпизодом гипоксии приводит к восстановлению параметра дыхательного контроля митохондрий мозга до значений интактных животных. Также при введении BDNF положительно влияло на выживаемость мышей. Вместе с тем, введение животным блокатора TrkB-рецепторов

ANA-12 условиях острой гипобарической гипоксии практически не влияло на параметр дыхательного контроля митохондрий и снижало выживаемость животных при гипоксии.

В разделе 3.3 показано, что хроническое введение BDNF диссоциированной культуре клеток головного мозга приводит к стимуляции дыхания в состоянии 4 (разобщающий эффект). Вместе с тем хроническая блокада TrkB-рецепторов приводит к снижению окислительного фосфорилирования митохондрий.

В разделе 3.4 автором использовалась методика хронического усиления эндогенной продукции нейротрофического фактора BDNF за счет обеспечения длительной экспрессии гена BDNF при помощи вирусного конструкта. Автором показано, что повышенная экспрессия BDNF оказывает выраженное нейропротекторное действие при моделировании ОГБГ, характеризующиеся сохранением интенсивности окислительного фосфорилирования и дыхательного контроля митохондрий. Также интересно отметить, что в норме длительная экспрессия нейротрофического фактора способствует росту регистрируемых показателей.

В разделе 3.5 проведена оценка влияния BDNF на жизнеспособность клеток первичных культур гиппокампа при моделировании острой нормобарической гипоксии *in vitro*. Автором было показано, что применение нейротрофического фактора BDNF оказывает выраженный нейропротекторный эффект.

В разделе 3.6 проведена оценка влияния нейротрофического фактора BDNF на функциональную кальциевую активность первичных культур гиппокампа в условиях гипоксического повреждения. Автором было показано, что превентивное применение BDNF частично нивелировало негативное действие нормобарической гипоксии, и способствовало поддержанию количества метаболически активных клеток.

Проведены исследования по изучению влияния экзогенного применения BDNF на синтез мРНК эндогенного BDNF на разных этапах культивирования диссоциированных культур гиппокампа. Автор показывает, что в процессе развития нейрон-глиальной сети изменяется интенсивность синтеза мРНК BDNF и отмечает, что наибольшая доля мРНК BDNF – позитивных клеток характерна для 10-14 дня культивирования. Автор также отмечает, что экзогенное применение BDNF не подавляет синтез мРНК BDNF в клетке.

Также диссертантом показано, что в норме BDNF увеличивает процент клеток, в которых активируется синтез мРНК NFκB1. Однако в условиях гипоксии данный эффект не зарегистрирован.

Завершается диссертационная работа Заключением, где в лаконичной форме обобщены проведенные исследования и полученные результаты. Важно отметить, что полученные результаты проиллюстрированы в виде схемы, что несомненно повышает

научную ценность диссертационной работы. Выводы диссертационного исследования соответствуют поставленным в работе цели и задачам.

#### **Достоверность и обоснованность положений и выводов диссертации.**

Степень достоверности полученных Астрахановой Т.А. результатов подтверждается множественностью и воспроизводимостью полученных данных. В работе использовались современные методы исследования. Информация, представленная в автореферате, полностью отражает содержание теоретических и практических положений диссертации, выводы идентичны.

#### **Освещение диссертации в научной печати**

Результаты диссертационного исследования Астрахановой Т.А. были широко представлены на конференциях российского и международного значения, а также освещены в центральной печати, в том числе в 7 статьях, индексируемых в базах данных Web of Science, Scopus. Это также говорит о достоверности полученных в работе результатов.

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

Полученные при выполнении диссертационной работы Астрахановой Т.А. данные имеют научную и практическую значимость. В настоящей работе представлен важный механизм протекторного действия нейротрофического фактора BDNF при гипоксических повреждениях. Практическая значимость исследования Астрахановой Т.А. заключается в экспериментальном обосновании выраженных антигипоксических и нейропротекторных свойств BDNF, что позволит в дальнейшем разработать новые терапевтические подходы для коррекции нарушений при патологиях мозга, связанных с развитием гипоксии.

#### **Замечания и вопросы к содержанию диссертационной работы**

Давая в целом положительную оценку диссертационной работе, хотел бы остановиться на некоторых моментах, которые вызывают замечания и вопросы.

1. В работе не описано, с чем связаны выбранные дозы BDNF при введение его животным (4мкг/кг) и клеткам (1нг/мл). Как эти дозы соотносятся с тем, что есть в организме и с тем уровнем сверхэкспрессии, который был стимулирован вирусным конструктором.
2. К сожалению, в работе не приведены некоторые контрольные эксперименты (как то одновременное введение BDNF и ANA животным), которые позволили бы еще точнее расшифровать описанные в работе механизмы.
3. С чем связаны столь высокие скорости дыхания митохондрий мозга мышей (например, на рис. 22, 24, 29). Несмотря на то, что данные значения не влияют

на интерпретацию полученных результатов, данные значения не совсем соотносятся с литературными данными по дыханию митохондрий мозга.

4. При исследовании животных с различной устойчивостью к гипоксии не очень корректно их сравнивать с группой «интактные животные». Популяция животных всегда содержит высоко-, средне- и низко-устойчивых животных и эпизод гипоксии лишь детектирует эти группы. Поэтому интактные животные включают в себя все три группы животных. Поэтому правильно было бы сначала разделить животных по устойчивости, а затем через месяц провести у части животных повторный эпизод острой гипобарической гипоксии и уже попарно сравнивать данные группы.
5. В работе встречаются стилистические ошибки и упущения. В частности отсутствуют ссылки на ряд рисунков в литературном обзоре. Некорректно переведен термин RCI (Respiratory control index) – респираторный контрольный индекс. Правильный перевод индекс дыхательного контроля (или просто дыхательный контроль. Кроме того, определение гипоксии Чарного (страница 27) не является наиболее удачным: «Патологическое состояние, наступающее в организме при неадекватном снабжении тканей и органов кислородом или при нарушении утилизации в них кислорода». Гипоксия все же таки более общее явление и сводить его к данному определению не очень правильно.

Несмотря на высказанные замечания, диссертационная работа Т.А. Астрахановой в целом заслуживает высокой положительной оценки. Критические комментарии вызваны интересом к представленным материалам и предложенным объяснениям.

### **Заключение**

Таким образом, следует признать, что диссертационная работа Т.А. Астрахановой, вне всякого сомнения, выполнена на актуальную тему на современном методическом уровне, содержит новые серьезные научные результаты, имеющие важное значение для развития современной физиологии, биохимии, биофизики, и клеточной биологии. Содержание автореферата и опубликованных статей полностью отражает содержание диссертации. Считаю, что диссертационная работа Астрахановой Татьяны Александровны на тему «Механизмы BDNF-опосредованной адаптации нервной системы к действию гипоксии», полностью соответствует требованиям, изложенным в разделе II «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, а ее автор заслуживает присуждения

искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – «Физиология».

**Официальный оппонент**

Профессор кафедры биохимии,  
клеточной биологии и микробиологии  
ФГБОУ ВО «Марийский  
государственный университет»



доктор биологических наук  
Белослудцев  
Константин Николаевич

12.08.2019



Адрес: 424000, Марий Эл, г. Йошкар-Ола, пл. Ленина, д. 1, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Марийский государственный университет»

Телефон: (8362)68-80-02

Сайт: [www.marsu.ru](http://www.marsu.ru)

e-mail: [bekonik@gmail.com](mailto:bekonik@gmail.com)