

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 001.003.01

на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» по диссертации Кировой Ю.И. на тему «Регуляторная роль сукцинатзависимых сигнальных систем (NIF-1 α и GPR91) при адаптации к гипоксии» (экспериментальное исследование) на соискание ученой степени доктора биологических наук.

аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 22 декабря № 7
о присуждении Кировой Юлии Игоревне, гражданке РФ, ученой степени
доктора биологических наук.

Диссертация «Регуляторная роль сукцинатзависимых сигнальных систем (NIF-1 α и GPR91) при адаптации к гипоксии» (экспериментальное исследование) по специальности 14.03.03 – «патологическая физиология» принята к защите 22.09.2016, протокол № 5 диссертационным советом Д 001.003.01 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» (125315, г. Москва, ул. Балтийская, д.8) (Приказ Рособнадзора о создании диссертационного совета № 1925-1299 от 09.09.2009; Приказы Минобрнауки о внесении изменений в состав совета № 656/нк от 23.06.2015; № 1252/нк от 14.10.2016).

Соискатель Кирова Юлия Игоревна 1974 года рождения, в 2004 году защитила диссертацию «Антиоксидантное и антитоксическое действие новых селеноорганических соединений» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.04 – «биохимия» в диссертационном совете Д 212.208.07 по биологическим наукам, созданном на базе Ростовского государственного университета (344006, г. Ростов-на-Дону, ул. Большая Садовая, 105, РГУ), с 2008 года работает ведущим научным сотрудником в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».

Диссертация выполнена в лаборатории биоэнергетики и проблем гипоксии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».

Научный консультант:

Лукьянова Людмила Дмитриевна, доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки РФ,

заведующая лабораторией биоэнергетики и проблем гипоксии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».

Официальные оппоненты:

Зинченко Валерий Петрович, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией внутриклеточной сигнализации Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биофизики клетки Российской академии наук;

Миронова Галина Дмитриевна, доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующая лабораторией митохондриального транспорта Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук;

Сазонтова Татьяна Геннадьевна, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории адаптационной медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»;

Отзывы официальных оппонентов положительные, в них дана высокая оценка представленной работы. На поставленные в отзывах вопросы Кировой Ю.И. даны исчерпывающие ответы.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук (г. Санкт-Петербург) в своем положительном заключении, подписанном заведующим отделом физиологии и патологии высшей нервной деятельности, заведующим лабораторией регуляции функций нейронов мозга ФГБУН Институт физиологии им. И.П.Павлова РАН, д.м.н., профессором М.О. Самойловым, указала, что совокупность основных положений работы можно квалифицировать как научное достижение, которое вносит существенный вклад в решение приоритетной задачи практического здравоохранения – повышение толерантности организма и мозга к гипоксии; данная диссертационная работа соответствует требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней» (Постановление Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г.), а ее автор, Кирова Юлия Игоревна, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 14.03.03 – «Патологическая

физиология».

Замечаний по работе нет.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что они являются признанными специалистами в данной отрасли науки, наличием публикаций по исследованиям близким к проблеме диссертационной работы соискателя (публикации размещены на сайте ФГБНУ НИИОПП):

http://niiopp.ru/netcat_files/diss/2016_Kirova_off_info_Zinchenko.pdf

http://niiopp.ru/netcat_files/diss/2016_Kirova_off_info_Mironova.pdf

http://niiopp.ru/netcat_files/diss/2016_Kirova_off_info_Sazontova.pdf

http://niiopp.ru/netcat_files/diss/2016_Kirova_lead_org_info.pdf

и, таким образом, способностью определить научную и практическую ценность диссертации.

Соискатель имеет 49 печатных научных работ, в том числе по теме диссертации – 34 работы, опубликованных в рецензируемых научных изданиях – 20. В опубликованных работах представлены результаты исследований, посвященных роли сукцинатзависимых сигнальных систем - HIF-1 α и GPR91 - в формировании механизмов адаптации к гипоксии у животных с индивидуальными врожденными различиями в устойчивости к дефициту кислорода.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

1. Lukyanova L.D., **Kirova Yu.I.** Mitochondria-controlled signaling mechanisms of brain protection in hypoxia // *Frontiers in Neuroscience*. - 2015. - V. 9. – P. 1-15. <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00320>

2. **Кирова Ю.И.**, Германова Э.Л., Лукьянова Л.Д. Фенотипические особенности динамики содержания HIF-1 α в неокортексе крыс при различных режимах гипоксии // *Бюлл. эксп. биол. и мед.* - 2012. – Т. 154, № 12. - С. 681-686.

3. **Кирова Ю.И.** Роль системы глутатиона в регуляции окислительно-восстановительного статуса коры головного мозга крыс при гипоксии // *Патол. физиол. и эксп. терапия*. - 2014. - № 4. – С. 40-47.

4. Лукьянова Л.Д., **Кирова Ю.И.**, Германова Э.Л. Особенности срочной экспрессии сукцинатзависимого рецептора GPR91 в тканях при гипоксии // *Бюлл. эксп. биол. и мед.* – 2015. – Т. 160, № 12. – С. 703-708.

На автореферат поступило 13 отзывов без критических замечаний, все положительные. Отзывы прислали:

1. **Андреева Наталья Николаевна**, доктор биологических наук, профессор кафедры нормальной физиологии им. Н.Ю. Беленкова Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Нижегородская государственная медицинская академия» Минздрава России;

2. **Воронина Татьяна Александровна**, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующая лабораторией психофармакологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова»;

3. **Ещенко Наталья Дмитриевна**, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры биохимии Биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»;

4. **Зарубина Ирина Викторовна**, доктор биологических наук, профессор кафедры фармакологии Федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего образования Военно-медицинская академия им. С.М.Кирова;

5. **Корнева Елена Андреевна**, академик РАН, профессор, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник отдела общей патологии и патофизиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины»;

6. **Косолапов Вадим Анатольевич**, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры фармакологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Волгоградский государственный медицинский университет Минздрава России, заведующий лабораторией антиоксидантных средств НИИ фармакологии Волгоградского государственного медицинского университета;

7. **Оковитый Сергей Владимирович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

8. **Поветьева Татьяна Николаевна**, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории фитотермофизиологии и специального питания Научно-исследовательского института фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга Федерального государственного бюджетного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН»;

9. **Портниченко Алла Георгиевна**, доктор медицинских наук, заведующая отделом по изучению гипоксических состояний Института физиологии им. О.О. Богомольца НАН Украины.

10. **Потиевская Вера Исааковна**, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

11. **Сухоруков Владимир Сергеевич**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий научно-исследовательской лабораторией общей патологии Научно-исследовательского клинического института педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

12. **Тюлькова Екатерина Иосифовна**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории регуляции функций нейронов мозга Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт физиологии имени И.П. Павлова РАН;

13. **Хайцев Николай Валентинович**, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры патологической физиологии с курсом иммунопатологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

В отзыве на автореферат диссертации доктора биологических наук, профессора, профессора кафедры биохимии Биологического факультета ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет» **Ещенко Натальи Дмитриевны** отмечается: «В порядке дискуссии хотелось бы

узнать мнение диссертанта о роли малат-аспартатного шунта как возможного пути образования эндогенного сукцината при гипоксии».

Все отзывы положительные, в них отмечается:

актуальность темы диссертации, посвященной решению приоритетной медицинской задачи – повышению толерантности организма к гипоксии;

новизна полученных данных, впервые обосновывающих существование сукцинатзависимой сигнальной регуляции, реализующейся при гипоксии через активацию транскрипционного фактора HIF-1 α и рецептора GPR91, направленной на формирование срочных и отсроченных молекулярных механизмов адаптации и увеличение резистентности организма к дефициту кислорода;

практическая значимость работы, состоящая в обосновании оптимальных для экспрессии HIF-1 α и GPR91 режимов однократного и курсового применения гипобарической гипоксии в условиях *in vivo* (гипокситерапия) с учетом индивидуальной толерантности животных к дефициту кислорода, а также правомочности применения в гипоксических условиях сукцинатсодержащих препаратов в качестве антигипоксических средств и активаторов процесса формирования адаптации к гипоксии.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана научная концепция сукцинатзависимой сигнальной регуляции при гипоксии, участвующей в формировании срочных и отсроченных молекулярных механизмов адаптации и увеличении резистентности организма к дефициту кислорода. При этом сукцинат выступает в роли сигнальной молекулы, реализующей свои эффекты по принципу аутокринного сигнала через активацию транскрипционного фактора HIF-1 α и рецептора GPR91;

предложены способы оптимизации реакции мозга на гипоксические воздействия и усиления защитно-адаптивных механизмов организма в условиях дефицита кислорода с учетом индивидуальной толерантности животных к дефициту кислорода, с помощью фармакологических средств (сукцинатсодержащих препаратов) и немедикаментозных воздействий (гипокситерапия);

экспериментально **доказано**, что тканью-мишенью гипоксической сукцинатзависимой индукции HIF-1 α и GPR91 является кора головного мозга (нейроспецифичность индукции);

введены новые представления о различной функциональной активности HIF-1 α и GPR91 в коре головного мозга животных с генетически детерминированными отличиями в резистентности к гипоксии: выявлена прямая зависимость между устойчивостью организма к гипоксии и содержанием GPR91 в коре головного мозга и обратная – с уровнем экспрессии HIF-1 α .

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

Доказано, что низкая базовая устойчивость к гипоксии сопряжена с высокими уровнями экспрессии HIF-1 α во всех тканях организма и, в особенности, в коре головного мозга; HIF-1 α играет ключевую роль в формировании адаптации к гипоксии у низкорезистентных к гипоксии животных; **что расширяет представление** о молекулярно-клеточных механизмах индивидуальной толерантности к гипоксии и формирования адаптации к дефициту кислорода;

эффективно использован комплекс существующих базовых методов с целью исследования роли сукцинатзависимых систем - HIF-1 α и GPR91 - в формировании срочных и отсроченных, молекулярных и системных механизмов адаптации к гипоксии у животных с врожденными различиями в устойчивости к гипоксии, включающий физиологические методы (дозированные гипоксические воздействия, тестирование общей резистентности организма к острой гипоксии), современные биохимические (спектрофотометрия, иммуноблоттинг) методы, иммуногистохимию, морфологический анализ;

изложены факты, демонстрирующие, что: индуцируемая гипоксией срочная экспрессия транскрипционного фактора HIF-1 α и GPR91 тканеспецифична (нейроспецифична), фенотипична, дозозависима, сукцинатзависима (активируется сукцинатом эндогенного и экзогенного происхождения), имеет короткий латентный период (при разных режимах: менее 15-30 мин) и сопровождается формированием срочной и отсроченной защитно-адаптивной резистентности к дефициту кислорода; гипоксическая индукция HIF-1 α потенцируется активацией сукцинатоксидазного окисления, продукцией сукцината в цикле Робертса (ГАМК-шунт), гипоксической индукцией HSP90 и ограничивается β -адренергической регуляцией; сукцинатный рецептор GPR91 является триггерной (индуцируется при гипоксии раньше срочной гипоксической экспрессии HIF-1 α), универсальной (не зависит от базовой устойчивости к гипоксии)

системой, гипоксическая индукция которой потенцируется продукцией сукцината в цикле Робертса (ГАМК-шунт), β -адренергической сигнализацией и развивается в условиях митохондриальной дисфункции (подавление активности сукцинатдегидрогеназы);

раскрыты особенности гипоксической индукции HIF-1 α и GPR91 в коре головного мозга при воздействии режимов гипоксии разной тяжести: дозозависимая индукция исследуемых факторов выявляется в области неповреждающих гипоксических воздействий; подавление экспрессии HIF-1 α в условиях тяжелой гипоксии и активации свободнорадикальных процессов, а также развитие в этих условиях индукции GPR91 свидетельствует о преимущественном вовлечении GPR91, но не HIF-1 α , в формирование защитно-адаптивных реакций мозга в условиях тяжелой гипоксии, сопряженных с развитием окислительного стресса и митохондриальной дисфункции;

изучена зависимость гипоксической индукции HIF-1 α и GPR91 в коре головного мозга от редокс-состояния ткани и функциональной активности системы глутатиона при разных режимах гипоксии; показано, что усиление свободнорадикальной активности и нарушение регуляторной роли системы глутатиона выявляются при тяжелых гипоксических воздействиях, но отсутствуют при более мягких режимах гипоксии, в условиях максимальной индукции и аккумуляции HIF-1 α и GPR91 и, следовательно, не являются в этом случае триггерным механизмом их гипоксической экспрессии.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

Экспериментально определены пределы и перспективы практического использования сукцинатсодержащих фармакологических препаратов и β -адреноблокаторов с целью повышения эффективности формирования механизмов адаптации к гипоксии; впервые продемонстрирована возможность направленного модулирования процесса адаптивного повышения резистентности к гипоксии путем использования экзогенного сукцината (мексидол), который активирует экспрессию HIF-1 α и GPR91, тогда как $\beta_{1/2}$ -адреноблокаторы вызывают ограничение экспрессии GPR91 и усиливают экспрессию HIF-1 α ;

представлены экспериментально обоснованные рекомендации по формированию схем и режимов гипоксических воздействий с целью немедикаментозной (гипокситерапия) оптимизации формирования

устойчивой адаптации организма к гипоксии, учитывающие различия в индивидуальной (врожденной) устойчивости организма к дефициту кислорода;

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

использованные современные физиологические, биохимические, гистохимические, молекулярно-биологические, статистические методы адекватны цели и задачам диссертационного исследования; подход параллельного применения независимых методов (иммуноблоттинг, иммуногистохимия) существенно повышает достоверность данных принципиально значимых для формирования оригинальных научных положений диссертации; все результаты получены с использованием сертифицированного оборудования и материалов; разработанная научная концепция базируется на результатах многолетних исследований, проводимых в лаборатории биоэнергетики и проблем гипоксии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», посвященных изучению механизмов гипоксии и адаптации к ней в организме животных с индивидуальными базовыми различиями в устойчивости к острой гипоксии, учитывает передовой опыт отечественных и зарубежных исследований в этой области; научные положения и выводы, содержащиеся в работе, соответствуют цели исследования, обоснованы экспериментальными фактами; результаты исследований опубликованы в отечественной и зарубежной печати, апробированы на отечественных и международных конференциях.

Личный вклад соискателя состоит в том, что результаты, представленные на защиту, получены и обработаны автором лично, либо при его непосредственном участии. Разработка общего плана исследования, выбор методических подходов и схем экспериментов, интерпретация данных были выполнены автором совместно с научным консультантом исследования Л.Д. Лукьяновой. Подготовка животных к экспериментам (ранжирование по индивидуальной устойчивости к гипоксии), введение препаратов, экспонирование животных в условиях разных режимов гипоксии, тестирование общей резистентности организма к острой гипоксии после введения препаратов и гипоксических тренировок осуществлялась автором совместно с Э.Л. Германовой. Весь комплекс лабораторно-аналитических работ (биохимические тесты, иммуноблоттинг, иммуногистохимические, морфологические исследования) и статистическая обработка данных были

выполнены лично автором. Автор выполнял подготовку основных публикаций по выполненной работе, апробацию результатов работы, подготовку манускрипта и автореферата диссертационной работы.

На заседании 22 декабря 2016 г. диссертационный совет принял решение:

- диссертация Кировой Ю.И. соответствует пункту 9 Положения о порядке присуждения ученых степеней (Постановление Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842), так как совокупность основных ее положений можно квалифицировать как научное достижение, которое вносит существенный вклад в решение приоритетной задачи практического здравоохранения – повышение толерантности организма и мозга к гипоксии - и заключается в разработке способов и подходов модуляции сукцинатзависимых молекулярных систем с целью предупреждения постгипоксических нарушений и усиления защитно-адаптивных механизмов организма в условиях дефицита кислорода;

- в диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации;

- присудить Кировой Юлии Игоревне ученую степень доктора биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 23 человек, из них 22 доктора наук по специальности 14.03.03 - патологическая физиология, участвовавших в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: «за» - 23, «против» - нет, недействительных бюллетеней нет.

Председатель совета,
доктор медицинских наук, профессор,
академик РАН

Кубатиев А.А.

Ученый секретарь,
кандидат медицинских наук

Скуратовская Л.Н.

22 декабря 2016 г.