

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента, заслуженного деятеля наук РФ, профессора, доктора биологических наук Арутюняна Александра Вардановича на диссертационную работу Притворовой Анастасии Вадимовны «Взаимосвязь индивидуально-типологических особенностей поведения крыс и окислительной модификации белков головного мозга в условиях стресса», представленную в диссертационный совет Д 002.020.01 при Институте физиологии им. И.П.Павлова РАН на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – «физиология»

### **Актуальность темы диссертации**

Исследование механизмов изменения чувствительности к стрессорным воздействиям остается актуальным на протяжении длительного времени. Важной составляющей частью этих исследований является изучение индивидуальной стрессореактивности. В настоящее время несомненна роль окислительно-восстановительных процессов в формировании различных паттернов реакций на стресс. Одними из участников этих процессов является окислительная модификация белка (ОМБ) и система антиоксидантной защиты. Антиоксидантная терапия нервных и психических расстройств широко используется в клинике, хотя и с разной эффективностью. Выяснение причин разной степени эффективности подобных терапевтических воздействий у индивида является важным для успешного лечения и составляет основу персонализированной медицины. Прояснению этих актуальных вопросов способствует исследование Притворовой А.В. посвященное изучению участия окислительной модификации белков и антиоксидантных ферментов в формировании стрессорного ответа у крыс с различными типологическими особенностями поведения в норме и при моделировании посттравматического стрессового расстройства.

### **Научная новизна результатов исследования**

В диссертации впервые выявлены особенности окислительной модификации белков и активности ферментов антиоксидантной защиты у крыс с индивидуально типологическими характеристиками поведения. Установлены различия в паттернах изменения исследованных показателей

при моделировании посттравматического стрессового расстройства у этих животных. Также, в результате проведенных автором исследований впервые показано, что пренатальный стресс оказывает влияние на уровень окислительной модификации белков структур мозга в динамике стрессорного ответа и вносит специфические изменения в процессы окислительной модификации белков структур мозга и крови в модели посттравматического стрессового расстройства. Основные результаты работы являются, безусловно, новыми и не имеют аналогов в литературе.

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

Результаты исследования, полученные диссертантом, расширяют представления о роли окислительной модификации белков и антиоксидантной системы в проявлении индивидуально типологических особенностей поведения и характере развития стресс-реакции в модели посттравматического стрессового расстройства у крыс с различными характеристиками поведения. Помимо этого, исследование влияния пренатального стресса на процессы свободнорадикального окисления белков в динамике стрессорного ответа и в модели посттравматического стрессового расстройства расширяет представления о патологических последствиях стрессорных воздействий в пренатальный период развития. Полученные данные могут быть полезны для разработки лечебно-профилактических мероприятий, направленных на устранение последствий окислительного стресса у индивидов с разными типологическими особенностями поведения.

### **Личный вклад соискателя**

Соискателем самостоятельно проведен анализ научной литературы по теме исследования и обоснована ее актуальность; сформулированы цели и задачи исследования; создан дизайн экспериментов и проведены исследования; написана и оформлена работа; подготовлены публикации и доклады по теме диссертации. Соавторы работы указаны в публикациях.

## **Апробация результатов исследования**

Основные результаты опубликованы в печати, из них по теме диссертации 5 статей в рецензируемых журналах, входящих в список ВАК и 9 тезисов докладов. Результаты исследований были неоднократно представлены на международных и Российских конференциях.

## **Характеристика содержания диссертации**

Кандидатская диссертация Притворовой А.В. имеет классическую структуру и состоит из следующих разделов: Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты, Обсуждение, Выводы, Список литературы. Диссертация изложена на 135 страницах машинописного текста, иллюстрирована 26 рисунками и 12 таблицами. Список литературы написан по требуемой форме и содержит 313 источников.

Во вводной части четко представлены цель и задачи исследования и приведено их обоснование.

В «Обзоре литературы» описаны современные представления об индивидуально типологических особенностях поведения и нейрохимических коррелятах поведенческих различий. Особое внимание уделено участию про- и антиоксидантных систем в развитии стресс-реакций на разнообразные стрессорные воздействия. Рассмотрены современные сведения о роли окислительной модификации белка в норме и в различных стрессорных моделях. Представленный обзор хорошо структурирован и охватывает все стороны исследуемой проблемы.

В разделе «Материалы и методы» описаны группы экспериментальных животных, методика оценки индивидуальных поведенческих различий животных, рассмотрены модели стрессовых воздействий. Далее описаны методы определения продуктов окислительной модификации белков, активности антиоксидантных ферментов и статистические методы, использовавшиеся в данной работе. Использованные в диссертации методы соответствуют поставленным в данной работе цели и задачам. Следует отметить, что метод определения карбонильных групп белков при

взаимодействии с 2,4-дифенилгидразином, на первый взгляд, кажется устаревшим, т.к. для характеристики окислительной модификации белков позднее широко применялись методы определения битирозиновых сшивок и окисленного триптофана в модифицируемых белках. Впоследствии использовались подходы с определением различных модифицированных аминокислотных остатков методом ионообменной хроматографии, были разработаны диагностические наборы для определения окисленных карбонильных остатков, с помощью которых были получены противоречивые результаты. Но недавно было проведено уникальное исследование в 7 независимых лабораториях с применением методов иммуноферментного анализа ELISA, вестерн-блота и масс-спектрометрического анализа, результаты которого обобщены в работе (Validation of protein carbonyl measurement: a multi-centre study. Augustyniak E., Adam A., Wojdyla K., Rogowska-Wrzesinska A., Willetts R., Korkmaz A. et al. Redox Biol. 2015; V.4: P.149-57), доказавшие правомочность использования 2,4-дифенилгидразина для определения окислительной модификации белков.

В разделе, посвященном изложению результатов исследования, приводятся полученные данные, которые проиллюстрированы рисунками и таблицами.

В обсуждении Притворова А.В. обобщает полученные данные и дает оценку результатам исследования, используя современные литературные данные российских и зарубежных авторов.

Экспериментальные данные, положенные в основу исследования Притворовой А.В., выполнены на достаточном количестве экспериментальных животных, традиционными методами исследования, что позволило провести необходимые статистические расчеты и написать обоснованные выводы. Положения, выносимые на защиту, и выводы отражают основные результаты проведенного исследования и полностью соответствуют поставленным задачам. Подробное изучение

диссертационного исследования Притворовой А.В. позволяет судить о достоверности материалов диссертации.

Материал диссертационной работы изложен грамотным научным языком, автор демонстрирует хорошее владение тематикой работы, текст иллюстрирован достаточным количеством таблиц и рисунков.

**Автореферат диссертации** полностью отражает основные положения диссертации, содержание и выводы работы.

Отмечая высокий уровень проделанной автором работы, актуальность темы исследования, обоснованность и научную новизну полученных результатов, реализацию поставленных целей и задач, хотелось бы отметить следующие замечания:

1. В диссертационной работе следует повсеместно использовать термин «окислительная модификация белков», т.к. он точно отражает суть происходящего процесса, а употребляемые авторами словосочетания типа «перекисное окисление белков», «белковое окисление» и «пероксидация белков» крайне неудачны.
2. Непонятно, каким образом можно судить о достоверности полученных результатов относительно действия иммобилизационного стресса на пренатально стрессированных животных при наличии 4 крыс в подопытной группе и всего одной в контрольной группе.

В порядке дискуссии, хотелось бы задать автору следующие вопросы:

1. С чем связано улучшение показателей ОМБ при пренатальном стрессе в гиппокампе, отсутствие их изменений в коре в отличие от гипоталамуса?
2. Как можно объяснить разнонаправленные сдвиги в уровне ОМБ и антиоксидантных ферментов при изученных стрессовых воздействиях в различных структурах мозга, исходя из функций, которые они выполняют в организме? При обсуждении полученных результатов автором была предпринята попытка обосновать их в соответствии с

функцией исследуемых структур мозга, но мне кажется, что это сделано недостаточно убедительно.

### **Заключение**

Диссертационное исследование Притворовой Анастасии Вадимовны на тему: «Взаимосвязь индивидуально-типологических особенностей поведения крыс и окислительной модификации белков головного мозга в условиях стресса» является законченным научно-квалификационным трудом. По своей актуальности, новизне, объему полученных данных и научно-практической значимости диссертация Притворовой А. В. полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук согласно п.9 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК РФ, утвержденного Постановлением Правительства РФ (№842 от 24 сентября 2013 года), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Заслуженный деятель наук РФ

доктор биологических наук, профессор,

заведующий лабораторией биохимии АННО ВО НИЦ

«Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии»

А. В. Арутюнян

26 ноября 2018 г.

Подпись з.д.н. РФ, доктора биологических наук, профессора Арутюняна А.В., заверяю.

Ученый секретарь АННО ВО НИЦ

«Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии»

доктор биологических наук, профессор



Т.В. Кветная

Адрес: 197110, Россия, Санкт-Петербург, пр. Динамо, д.3.  
Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии  
Телефон: +7(921)633-50-96. E-mail: [alexarutiunjan@gmail.com](mailto:alexarutiunjan@gmail.com)