

Протокол № 58  
Заседания диссертационного совета Д 212.038.03  
при Воронежском государственном университете  
от 29 марта 2017 г.

Состав диссертационного совета утверждён в количестве 19 человек. На заседании присутствовало 13 членов совета, в том числе по специальности – 6 докторов наук.

Защита диссертации Бережной Елены Викторовны «Изменения митохондриального метаболизма и роль факторов транскрипции NF-κB, AP-1 и NIF-1 при фотодинамическом повреждении нейронов и глиальных клеток», представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – «биофизика».

Вопросы по защищаемой диссертации заданы:

1. д.б.н., проф. Епринцев А.Т.;
2. д.м.н., проф. Пинелис В.Г.;
3. д.б.н., проф. Путинцева О.В.;
4. д.б.н., проф. Вашанов Г.А.;
5. д.б.н., проф. Ершова А.Н.;
6. д.б.н., проф. Артюхов В.Г.;

В дискуссии приняли участие:

1. д.б.н., проф. Епринцев А.Т.;
2. д.м.н., проф. Алабовский В.В.;
3. д.м.н., проф. Пинелис В.Г.;
4. д.б.н., проф. Артюхов В.Г.

Результаты голосования по вопросу присуждения учёной степени кандидата биологических наук Бережной Елены Викторовне:

«за» - 13;

«против» - 0 (нет);

недействительных бюллетеней – нет.

(протокол счётной комиссии прилагается)

Председатель  
диссертационного совета Д 212.038.03  
д.б.н., проф.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
д.б.н., проф.  
29 марта 2017 г.



Артюхов Валерий Григорьевич

Грабович Маргарита Юрьевна

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 212.038.03 НА БАЗЕ  
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ВОРОНЕЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ» ПО  
ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК**

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 29.03.17 № 58

О присуждении Бережной Елене Викторовне ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Изменения митохондриального метаболизма и роль факторов транскрипции NF-κB, AP-1 и NIF-1 при фотодинамическом повреждении нейронов и глиальных клеток» по специальности 03.01.02 – биофизика принята к защите 25.01.2017 г., протокол № 56 диссертационным советом Д 212.038.03 на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет», Министерство образования и науки РФ, 394018, г. Воронеж, Университетская площадь, 1; приказ №717/нк от 09.11.2012.

Соискатель Бережная Елена Викторовна, 1989 года рождения, работает младшим научным сотрудником в Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Южный федеральный университет», Минобрнауки РФ.

В 2012 году окончила магистратуру федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Южный федеральный университет» по направлению «Физика». В 2016 г. окончила очную аспирантуру ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет».

Диссертация выполнена в Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет», Минобрнауки РФ.

Научный руководитель, доктор биологических наук, профессор Узденский Анатолий Борисович, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Южный федеральный университет», Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, лаборатория «Молекулярная нейробиология», заведующий.

Официальные оппоненты:

Сурин Александр Михайлович, доктор биологических наук, ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» (г. Москва), лаборатория фундаментальных и прикладных проблем боли, главный научный сотрудник;

Балалаева Ирина Владимировна, кандидат биологических наук, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», кафедра биофизики биологического факультета, доцент  
- дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологически активных веществ Российской академии наук, г. Черноголовка, в своем положительном заключении, подписано Шевцовой Еленой Феофановной, кандидатом химических наук, главным научным сотрудником лаборатории биомолекулярного скрининга указала, что «Диссертация Е.В. Бережной Е.В. полностью соответствует всем требованиям «Положения ВАК», предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор, Е.В. Бережная – заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности – биофизика (03.01.02)».

Соискатель имеет 28 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 28, работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях - 9. Авторский вклад составляет 80%. Общий объем – 5 печ. л.

Наиболее значительные работы:

1. Uzdensky A. Protection of the crayfish mechanoreceptor neuron and glial cells from photooxidative injury by modulators of diverse signal transduction pathways / A. Uzdensky, E. Berezhnaya, A. Khaitin, V. Kovaleva, M. Komandirov, M. Neginskaya, M. Rudkovskii, S. Sharifulina // *Molecular Neurobiology*. – 2015. – V. 52, N. 2. - P. 811–825.

2. Berezhnaya E. On involvement of transcription factors nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, activator protein-1 and signal transducer and activator of transcription-3 in photodynamic therapy-induced death of crayfish neurons and satellite glial cells / E. Berezhnaya, M. Neginskaya, V. Kovaleva, S. Sharifulina, I. Ischenko, M. Komandirov, M. Rudkovskii, A. Uzdensky // *Journal of Biomedical Optics*. – 2015. – V. 20, N. 7. – P. 075004-1–075004-9.

3. Узденский А.Б. Реакции нейронов и глиальных клеток рака на фотодинамическое воздействие: факторы транскрипции и эпигенетическая регуляция / А.Б. Узденский, Е.В. Бережная, В. Д. Ковалева, М.А. Негинская, М.В. Рудковский, С.А. Шарифулина // Биологические мембраны. – 2015. – Т. 32, N. 5–6. – С. 437–445.

На диссертацию и автореферат поступило 7 отзывов от: 1) ст.н.с. лаборатории внутриклеточной сигнализации «Института биофизики клетки РАН», к.б.н. Бережного А.В.; 2) директора НОЦ «Фундаментальные основы медицинских и биомедицинских технологий», проф. каф. «Медицинская физика» д. ф.-м. н., доц. Власовой О.В.; 3) зав. лабораторией ФГБУН «Институт экспериментальной и теоретической биофизики РАН», заслуженного деятеля науки РФ, д.б.н., проф. Мироновой Г.Д.; 4) зав. каф. оптики и биофотоники физического факультета Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н.Г. Чернышевского, заслуженного деятеля науки РФ, д.ф.-м.н., проф. Тучина В.В., доцента каф. оптики и биофотоники физического факультета Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н.Г. Чернышевского, к.ф.-м.н., с.н.с. Акчурина Г.Г.; 5) заведующего сектором нейрофармакологии ФГБУН «Институт молекулярной генетики Российской академии наук», к.х.н. Шрам С.И.; 6) руководителя испытательного лабораторного центра ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский Онкологический институт» МЗ РФ, д.б.н., проф. Шихляровой А.И. 7) в.н.с. лаборатории молекулярной генетики внутриклеточного транспорта ФГБУН «Институт биологии гена РАН» к.б.н. Розенкранца А.А.

Все отзывы положительные, замечания носят рекомендательный характер.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается высокой квалификацией рецензентов по тематике диссертационной работы.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

**разработаны** новые научные концепции об изменениях митохондриального метаболизма нейронов и астроцитов первичной сокультуры коры мозга крысы при фотоиндуцируемом окислительном стрессе и участии факторов транскрипции NF-κB, AP-1 и NIF-1 в выживаемости нейронов и глиальных клеток механорецептора растяжения речного рака при фотодинамическом воздействии.

**предложен** новый комплексный подход к исследованию изменений митохондриального метаболизма и участия факторов транскрипции NF-κB, AP-1 и HIF-1 в повреждении клеток при фотодинамическом воздействии.

**доказано**, что фотоиндуцируемый окислительный стресс ведёт к изменениям митохондриального метаболизма нейронов и астроцитов первичной сокультуры коры мозга крысы, связанным с генерацией супероксид-аниона, перекисным окислением липидов, PARP-зависимыми снижением депо НАДН и падением митохондриального потенциала, гибель нейронов и глиальных клеток механорецептора речного рака при этом регулируется, в том числе факторами транскрипции NF-κB, AP-1 и HIF-1.

**введены** представления о характеристиках окислительного стресса, вызванного фотодинамическим воздействием, фотодинамически индуцированных изменениях митохондриального метаболизма, опосредованных в том числе генерацией супероксид-аниона, перекисным окислением липидов и функционированием фермента PARP, а также о роли факторов транскрипции NF-κB, AP-1 и HIF-1 в регуляции повреждения нервной ткани при фотодинамическом воздействии.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:**

**доказаны** положения диссертационной работы. Показано, что фотодинамическое воздействие ускоряет генерацию супероксид-аниона и перекисное окисление липидов в культивируемых нейронах и астроцитах и увеличивает уровень восстановленного глутатиона в астроцитах. Установлено, что одним из механизмов повреждения нейронов и астроцитов при фотодинамическом воздействии является функционирование фермента PARP, которое ведет к истощению НАДН депо и последующей деполяризации митохондрий. Продемонстрировано, что фактор транскрипции NF-κB участвует в фотоиндуцированном некрозе нейронов и апоптозе глиальных клеток механорецептора рака, но защищает глиальные клетки от некроза. Выявлено, что фактор транскрипции AP-1 участвует в фотоиндуцированном апоптозе глиальных клеток механорецептора рака. Показано, что фактор транскрипции HIF-1 защищает глиальные клетки механорецептора рака от фотоиндуцированного некроза и участвует в фотоиндуцированном апоптозе.

Применительно к проблематике диссертации результативно (эффективно, то есть с получением обладающих новизной результатов)

**использованы** методы прижизненной регистрации флуоресценции НАД(Ф)Н, а также флуоресцентных зондов на супероксид-анион, перекисное окисление липидов и восстановленный глутатион, ингибиторно-активаторный анализ, флуоресцентно-микроскопическое исследование некроза и апоптоза нейронов и глиальных клеток и внеклеточная регистрация импульсной активности нейронов.

**изложены** доказательства того, что окислительный стресс, вызванный фотодинамическим воздействием, изменяет митохондриальный метаболизм нейронов и астроцитов, в том числе за счёт генерации супероксид-аниона, перекисного окисления липидов и функционирования фермента PARP, и в регуляции последующей гибели нейронов и глиальных клеток участвуют факторы транскрипции NF-κB, AP-1 и HIF-1.

**раскрыты** процессы, протекающие в нервной ткани и связанные с фотоиндуцируемым окислительным стрессом, изменением функционального состояния митохондрий и участием факторов транскрипции NF-κB, AP-1 и HIF-1.

**изучено** фотодинамическое воздействие радахлорина на характеристики индуцируемого окислительного стресса и показатели митохондриального метаболизма в нейронах и астроцитах, а также действие модуляторов факторов транскрипции NF-κB, AP-1 и HIF-1 на различные показатели выживаемости нейронов и глиальных клеток, как в темновых условиях, так и при фотодинамическом воздействии фотосенса.

**проведена модернизация** комплексных подходов, обеспечивающих оценку изменений митохондриального метаболизма и участия факторов транскрипции NF-κB, AP-1 и HIF-1 в повреждении нейронов и глии при ФДТ.

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

**разработаны** новые комплексные подходы к модулированию реакции здоровых нейронов и глиальных клеток на фотодинамический эффект путем воздействия на фермент PARP и факторы транскрипции NF-κB, AP-1 и HIF-1.

**определены** перспективы практического использования полученных результатов, которые могут служить основой для оптимизации фотодинамической терапии в клинической практике, в частности для учёта возможного фотодинамического воздействия на здоровую нервную ткань и разработки методов

более селективного разрушения злокачественных клеток при фотодинамической терапии опухолей мозга.

**создана** концептуальная схема изменений митохондриального метаболизма и роли факторов транскрипции NF-κB, AP-1 и HIF-1 при повреждении нейронов и глиальных клеток в результате фотодинамического воздействия.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила:**

**для экспериментальных работ** результаты получены на сертифицированном оборудовании, подвергнуты статистической обработке при использовании лицензионных компьютерных программ, показана воспроизводимость результатов исследования в различных условиях.

**теория** построена на новых данных, согласуется с опубликованными экспериментальными результатами по исследованиям участия митохондрий и факторов транскрипции NF-κB, AP-1 и HIF-1 в окислительном стрессе.

**идея базируется** на анализе полученных экспериментальных данных и практике мирового опыта по изучению участия митохондрий и факторов транскрипции NF-κB, AP-1 и HIF-1 в окислительном стрессе, вызванном фотодинамическим воздействием.

**использованы** сравнения авторских результатов и данных, полученных ранее при исследовании митохондриального метаболизма и факторов транскрипции NF-κB, AP-1 и HIF-1 в нейронах и глиальных клетках.

**установлено** качественное и количественное соответствие авторских результатов с данными, представленными в независимых источниках по изучению митохондриального метаболизма и факторов транскрипции NF-κB, AP-1 и HIF-1, как в темновых условиях, так и при фотодинамическом воздействии.

**использованы** современные методики сбора и математической обработки исходной информации, обоснован подбор объектов наблюдения и измерения.

**Личный вклад соискателя состоит** в непосредственном участии автора в разработке программы исследований, постановке и проведении лабораторных экспериментов, статистической обработке и интерпретации экспериментальных данных, разработке концептуальной схемы изменений митохондриального метаболизма и роли факторов транскрипции NF-κB, AP-1 и HIF-1 в повреждении нейронов и глии в результате фотодинамического воздействия и подготовке основных

публикаций по выполненной работе. Материалы диссертации были доложены на всероссийских и международных научно-практических конференциях.

Диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной задачи и соответствует критерию внутреннего единства, что подтверждается наличием последовательного плана исследования, непротиворечивой методологической платформой, концептуальностью и взаимосвязью выводов.

В диссертации Бережной Елены Викторовны соблюдены установленные Положением о присуждении учёных степеней критерии, которым должна отвечать диссертация на соискание учёной степени кандидата биологических наук.

В диссертации Бережной Елены Викторовны отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

На заседании 29.03.17 диссертационный совет принял решение присудить Бережной Е.В. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 13 человек, из них 6 докторов наук (по специальности рассматриваемой диссертации), участвовавших в заседании, из 19 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 13, против - нет, недействительных бюллетеней - нет.

Председатель  
диссертационного совета

Артюхов Валерий Григорьевич

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
29 марта 2017 г.

Грабович Маргарита Юрьевна

