

Протокол № 86  
заседания диссертационного совета Д 212.038.03 по защите  
кандидатской диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук  
от 03.03.2020 г.

Состав диссертационного совета утвержден в количестве 19 человек.

Присутствовало на заседании 13 человек, в том числе по специальности  
– 8 докторов наук.

**Председатель:** д.б.н., профессор Артюхов Валерий Григорьевич

**Присутствовали:** д.б.н., профессор Артюхов Валерий Григорьевич,  
д.б.н., профессор Вашанов Геннадий Афанасьевич, д.б.н., профессор  
Грабович Маргарита Юрьевна, д.б.н., профессор Епринцев Александр  
Трофимович, д.б.н., профессор Ершова Антонина Николаевна, д.б.н.,  
профессор Калаев Владислав Николаевич, д.б.н., профессор Корнеева Ольга  
Сергеевна, д.б.н., профессор Наквасина Марина Александровна, д.б.н.,  
профессор Попов Василий Николаевич, д.б.н., профессор Попова Татьяна  
Николаевна, д.б.н., профессор Путинцева Ольга Васильевна, д.фарм.н.,  
профессор Сливкин Алексей Иванович, д.б.н., доцент Холявка Марина  
Геннадьевна.

**Официальные оппоненты:**

- Белоусов Всеволод Вадимович, доктор биологических наук,  
профессор РАН, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
«Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А.  
Овчинникова» РАН, отдел метаболизма и редокс-биологии, заведующий  
отдела – отсутствовал.

- Белослудцев Константин Николаевич, доктор биологических наук,  
Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения  
высшего образования «Марийский государственный университет», кафедра  
биохимии, клеточной биологии и микробиологии, профессор –  
присутствовал.

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования «Московский государственный университет имени  
М.В. Ломоносова»

Слушали: защиту диссертационной работы аспиранта Гуреева Артема Петровича на тему: «Модуляция метаболизма активных форм кислорода и биогенеза митохондрий мозга при старении мышечной ткани», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – Биохимия.

**Вопросы по защищаемой диссертации задали:** д.б.н., профессор Артюхов Валерий Григорьевич, д.б.н., профессор Епринцев Александр Трофимович, д.б.н., профессор Ершова Антонина Николаевна, д.б.н., профессор Калаев Владислав Николаевич, д.б.н., профессор Корнеева Ольга Сергеевна, д.б.н., профессор Путинцева Ольга Васильевна, д.б.н., доцент Холявка Марина Геннадьевна.

**В дискуссии приняли участие:** д.б.н., профессор Артюхов Валерий Григорьевич, д.б.н., профессор Вашанов Геннадий Афанасьевич, д.б.н., профессор Епринцев Александр Трофимович, д.б.н., профессор Калаев Владислав Николаевич.

Постановили: на основании протокола № 1 счетной комиссии считать, что диссертация Гуреева Артема Петровича отвечает всем требованиям, предъявляемым ВАК РФ к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – Биохимия.

Результаты голосования: «за» – 13, «против» – нет, недействительных бюллетеней – нет (протокол счетной комиссии прилагается).

Стенограмма и заключение диссертационного совета прилагается.

Председатель диссертационного совета

Д 212.038.03

д.б.н., профессор

Ученый секретарь

диссертационного совета

д.б.н., профессор



Артюхов В.Г.

Грабович М.Ю.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 212.038.03,  
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ  
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ВОРОНЕЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»,  
МИНОБРНАУКИ РОССИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ  
СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК  
аттестационное дело № \_\_\_\_\_  
решение диссертационного совета от 03.03.2020 г. № 86

О присуждении Гурееву Артему Петровичу ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Модуляция метаболизма активных форм кислорода и биогенеза митохондрий мозга при старении мышечной ткани» по специальности 03.01.04 – Биохимия принята к защите 22.10.2019 г., протокол № 84, диссертационным советом Д 212.038.03, созданным на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет» Минобрнауки России, 394018, г. Воронеж, Университетская пл., 1; приказ № 717/нк от 09.11.2012.

Гуреев Артем Петрович, 1993 года рождения, аспирант очной формы обучения медико-биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет».

В 2014 году окончил бакалавриат биолого-почвенного факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Воронежский государственный университет».

В 2016 году окончил магистратуру медико-биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет».

Диссертация выполнена на кафедре генетики, цитологии и биоинженерии медико-биологического факультета в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Воронежский государственный университет» Минобрнауки России.

Научный руководитель - доктор биологических наук, профессор, Попов Василий Николаевич, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет», медико-биологический факультет, кафедра генетики, цитологии и биоинженерии, заведующий.

Официальные оппоненты:

- Белоусов Всеволод Вадимович, доктор биологических наук, профессор РАН, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова» РАН, отдел метаболизма и редокс-биологии, заведующий отдела

- Белослудцев Константин Николаевич, доктор биологических наук, Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Марийский государственный университет», кафедра биохимии, клеточной биологии и микробиологии, профессор

- дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», г. Москва, в своем положительном заключении, подписанном доктором биологических наук, заведующим лабораторией биологического действия мембранофильных катионов, Северином Федором Федоровичем, указал, что диссертационное исследование Гуреева А.П. является самостоятельной законченной научно-квалифицированной работой, в которой содержится решение актуальной задачи по исследованию метаболизма активных форм кислорода и митохондриального биогенеза мозга при старении мышечной ткани. Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 03.01.04. – Биохимия и полностью отвечает требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842, а ее автор Гуреев Артем Петрович достоин присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04. – Биохимия.

Соискатель имеет 50 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 21 работа, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 9 работ.

Все работы посвящены исследованию метаболизма активных форм кислорода и биогенеза митохондрий мозга при старении мышечной ткани. Авторский вклад составляет 85%. Общий объем - 7,9 печ. л.

Наиболее значительные научные работы:

1. Gureev A.P., Shaforostova E.A., Popov V.N. Regulation of mitochondrial biogenesis as a way for active longevity: interaction between the Nrf2 and PGC-1 $\alpha$  signaling pathways // *Frontiers in Genetics*. – 2019. - Vol. 10. – P. 435.

2. Gureev A.P., Shaforostova E.A., Starkov A.A., Popov V.N. Simplified qPCR method for detecting excessive mtDNA damage induced by exogenous factors // *Toxicology*. – 2017. – Vol. 382. – P. 67-74.

3. Gureev A.P., Shaforostova E.A., Popov V.N., Starkov A.A. Methylene blue does not bypass Complex III antimycin block in mouse brain mitochondria // FEBS Letters. – 2019. – Vol. 593. – P. 499-503.

На диссертацию и автореферат поступило 5 положительных отзывов от: 1) Петюренко М.Ю., д.б.н., к.с.-х.н., младшего научного сотрудника отд. лесной генетики и биотехнологии ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии»; 2) Фролова Е.Н., к.б.н., научного сотрудника лаборатории метаболизма экстремофильных прокариот Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН; 3) Швыревой У.С., к.б.н., научного сотрудника лаборатории Функциональной геномики и клеточного стресса Института биофизики клетки РАН, обособленного подразделения Федерального научного центра «Пущинский научный центр биологических исследований» РАН; 4) Трубициной Л.И., к.б.н., младшего научного сотрудника лаборатории микробной энзимологии Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований» РАН; 5) Шуваевой Г.П., к.б.н., доцента кафедры биохимии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий».

Все отзывы положительные, в них отмечается актуальность работы, научная новизна, теоретическая и практическая значимость результатов. Замечания носят рекомендательный характер.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их компетентностью по тематике диссертационного исследования, наличием публикаций по данной тематике в рецензируемых научных изданиях, включенных в перечень ВАК Минобрнауки России, содержанием диссертационной работы и формулой паспорта специальности «03.01.04 – Биохимия».

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

**модифицирован** метод оценки количества повреждений мтДНК мышей с помощью ПЦР длинных фрагментов с учетом наличия в ядре псевдоденов, а также с расчетом степени эффективности и линейности амплификации таргетных фрагментов.

**предложен** новый подход к геронтопротекции за счет активации Nrf2/ARE-сигнального каскада, вызванной увеличением скорости продукции H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, и дефицита энергии, которые вызывают активацию митохондриального биогенеза.

**доказано**, что роль Nrf2/ARE сигнального пути в аспекте адаптивной регуляции митохондриального биогенеза является более значимой, чем роль PGC-1 $\alpha$ . По крайней мере, это справедливо для мозга, где метаболизм липидов вносит меньший вклад в общие обменные процессы, по сравнению с другими тканями.

**введены** представления о возрастном снижении функциональности Nrf2/ARE-сигнального каскада, что может являться одной из причин возрастного снижения интенсивности митохондриального биогенеза.

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

**доказаны** положения диссертационной работы: выявлено, что при старении наблюдается снижение функциональности Nrf2/ARE-сигнального каскада, что может являться одной из причин возрастного снижения интенсивности митохондриального биогенеза и антиоксидантной защиты в головном мозге. При этом мягкий окислительный стресс и дефицит энергии способны запускать в стареющем мозге компенсаторные реакции, приводящие к адаптивной индукции митохондриального биогенеза, предположительно, за счет активации Nrf2/ARE сигнального каскада. Структура мтДНК крайне гетерогенна и неравномерно подвержена окислительным повреждениям. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> селективно повреждает фрагменты мтДНК, обогащенные GTGR-последовательностями. Влияние гуанидиновых соединений и ротенона на митохондрии среднего и переднего мозга различаются. Наиболее вероятно, что это связано с особенностью их транспорта через гематоэнцефалический барьер. Роль Nrf2/ARE сигнального пути в адаптивной регуляции митохондриального биогенеза является, вероятно, более значимой, чем роль PGC-1 $\alpha$ .

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

**использованы** биохимические методы для изучения мембранного потенциала митохондрий, скорости продукции H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, интенсивности митохондриального дыхания, активности ферментов и определения концентрации окислительных модификаций липидов, метод полимеразной цепной реакции в реальном времени для оценки экспрессии генов, количества копий и уровень повреждений мтДНК. Используются физиологические методы для оценки поведенческих особенностей у мышей.

**изложены** механизмы регуляции митохондриального биогенеза при индукции мягкого окислительного и энергетического стресса в мозге.

**раскрыты** механизмы функционирования метиленового синего в изолированных митохондриях.

**изучено** влияние фенофибрата на метаболизм жирных кислот и антиоксидантную защиту в мозге и печени мышей.

**проведена модернизация** способа оценки количества повреждений мтДНК с помощью ПЦР длинных фрагментов.

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

**разработан и внедрен** новый подход к оценке количества одно- и двуцепочечных разрывов мтДНК.

**определены** возможности практического использования полученных результатов, которые могут служить основой для разработки новых подходов к превентивной терапии нейродегенеративных заболеваний.

**создана** гипотетическая модель регуляции митохондриального биогенеза, индуцированного мягким окислительным и энергетическим видами стресса.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила:**

**для экспериментальных работ** результаты воспроизводимы, получены на сертифицированном оборудовании, подвергнуты статистической обработке при использовании лицензионных компьютерных программ.

**теория** построена на новых экспериментальных данных и согласуется с опубликованными экспериментальными результатами по исследованиям механизма регуляции митохондриального биогенеза в мозге при адаптивных реакциях организма.

**идея базируется** на анализе полученных экспериментальных данных и практике мирового опыта по изучению митохондриального метаболизма и биогенеза в мозге при старении.

**использованы** сравнения авторских результатов и данных, полученных ранее при изучении эффектов веществ, активирующих Nrf2/ARE и PGC-1 $\alpha$  сигнальные пути в клетке.

**установлено,** что полученные автором результаты согласуются с имеющимися данными по изучению митохондриального метаболизма и биогенеза в мозге стареющих мышей.

**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 по изучению митохондриального метаболизма и биогенеза в мозге мышцей, модификации метода оценки количества повреждений мтДНК, и подготовке основных публикаций по выполненной работе. Материалы диссертации были доложены: на Всероссийских и Международных научно-практических конференциях.

Диссертация Гуреева А.П. является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи по изучению возрастных изменений митохондриального биогенеза и метаболизма активных форм кислорода, возможности фармакологической активации митохондриального биогенеза, оптимизации метода оценки количества повреждений мтДНК, что имеет важное значение для разработки препаратов для лечения нейродегенеративных заболеваний.

Диссертация Гуреева А.П. отвечает критериям, установленным Положением о присуждении ученых степеней (пп. 9-14) для диссертаций на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

В диссертации Гуреева Артема Петровича отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

На заседании 03.03.2020 г. диссертационный совет принял решение присудить Гурееву А.П. ученой степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 13 человек, из них 8 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

Ученый секретарь

диссертационного совета

3 «марта» 2020 г.



Артюхов Валерий Григорьевич

Грабович Маргарита Юрьевна