

«Утверждаю»



Директор ИНЭОС РАН

академик

А. М. Музафаров

«01» марта 2017г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

**Федерального бюджетного учреждения науки
Института элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова
Российской академии наук (ИНЭОС РАН)**

Диссертационная работа «Мембранотропные пептиды, выделенные из морских беспозвоночных животных и гриба *Fusarium sambucinum*» выполнена в лаборатории физиологически активных биополимеров ИНЭОС им. А.Н. Несмеянова РАН. В период подготовки диссертации соискатель Богданов Всеволод Владимирович работал в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук в лаборатории физиологически активных биополимеров в должностях инженера-исследователя (2010 – 2013) и младшего научного сотрудника (2013 – н.в.).

В 2010 году Богданов В.В. окончил Российский химико-технологический Университет им. Д.И. Менделеева по специальности «химическая технология органических веществ». Удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов выдано в 2016 году Федеральным государственным образовательным учреждением высшего образования Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова.

Научные руководители:

Ямсков Игорь Александрович, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н.

Несмеянова Российской академии наук, лаборатория физиологически активных биополимеров, доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией.

Ямскова Виктория Петровна, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук, лаборатория биохимии процессов онтогенеза, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник.

В ходе обсуждения диссертанту были заданы следующие вопросы:

– кандидат химических наук *Фалеев Н.Г.*: «что такое роллерное органотипическое культивирование ткани печени тритона?». *Богданов В.В.*: «данная модель предполагает культивирование фрагмента печени при постоянном вращении сосудов с культурой; ранее для веществ этой группы, выделенных из сыворотки крови млекопитающих, была показана необходимость сохранения гистоструктуры ткани, поскольку для влияния данных биорегуляторов на клеточные процессы необходимо сохранение межклеточного пространства, которое отсутствует в суспензионных культурах клеток».

– кандидат биологических наук *Рыбакова Е.Ю.*: «как оценивали мембранотропную активность изучаемых пептидов?». *Богданов В.В.*: «для этого использовался адгезиометрический метод, разработанный и с успехом применяемый для биорегуляторов данной группы практически с самого времени их открытия. Он использует свойства этих веществ как молекул адгезии, влияющих на вязкоупругие свойства клеточных мембран гепатоцитов мыши. Изменение этих свойств оценивается при проводимой в стандартных условиях дезинтеграции фрагментов ткани печени, культивируемой с добавлением исследуемого биорегулятора и без него. Различие в количестве разрушившихся клеток в контрольной и опытной сериях является критерием для оценки мембранотропной активности изучаемых пептидных фракций.

– кандидат химических наук Ильина А.П.: «как оценивали степень фиброза у крыс в эксперименте *in vivo*?». Богданов В.В.: «с применением методов компьютерной визуализации оказалось возможным оценить площадь фибротического поражения на гистологических срезах ткани при дифференциальной окраске по Маллори. Применяя непараметрические статистические критерии к полученным результатам, мы получили данные о достоверности различий между экспериментальными группами по этому параметру – удельной площади фибротических поражений печени».

– доктор биологических наук Шарова Н.П.: «в чем перспектива практического применения изучаемых веществ?». Богданов В.В.: «целью моей работы было показать общность изучаемой группы веществ для живых организмов, проверить их наличие в более широком диапазоне таксономических групп, чем это было сделано ранее. При наличии таких свойств данных биорегуляторов, как тканеспецифичность биологического действия в отсутствие видовой специфичности, открываются перспективы применения самых разных живых организмов в виде доступного сырья для получения биологически активных веществ, имеющих потенциал стимуляторов регенерации и протекции тканей в организме. В представляемой мной работе продемонстрировано гепатопротекторное и ранозаживляющее действие ряда изученных мной веществ, в том числе в экспериментах *in vivo*, что дает основания для их дальнейшей разработки в качестве перспективных лекарственных препаратов».

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Богдановым В.В. выполнено обширное исследование ранее неизвестных мембранотропных пептидов, выделенных из морских беспозвоночных животных и гриба *Fusarium sambucinum*.

Актуальность работы

Изучение механизмов, лежащих в основе процессов биорегуляции в живых организмах, является одной из основных проблем современной биологии.

Известно, что состояние межклеточных адгезионных взаимодействий в тканях определяет ход и направленность основных биологических процессов. В

настоящее время показано, что различные пути регуляторной трансдукции сопряжены с функционированием адгезивных макромолекулярных структур и белков межклеточного пространства. В этом аспекте интерес вызывают мембранотропные гомеостатические тканеспецифические биорегуляторы, ранее обнаруженные в различных тканях позвоночных животных и растений.

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии в выделении исследуемых веществ, проведении физико-химических и биологических экспериментов. Постановка задач, экспериментов и обсуждение полученных результатов проводились при личном участии автора. Автором лично подготовлены и написаны 3 статьи для рецензируемых научных журналов по теме исследования. Материалы диссертации в полном объеме доложены автором в устных докладах на ряде российских и международных конференций.

Научная новизна и практическая ценность работы заключается в следующем:

В настоящем исследовании впервые показано присутствие мембранотропных пептидов, сходных по свойствам с ранее изученной группой мембранотропных гомеостатических тканеспецифических биорегуляторов (МГТБ), в тканях беспозвоночных животных и микроскопических грибах, что свидетельствует в пользу предположения о существовании опосредуемого данными веществами механизма регуляции во всех живых организмах. Впервые на моделях роллерного органотипического культивирования печени тритона *in vitro* и CCl₄-индуцированного фиброза печени крыс *in vivo* было показано тканеспецифическое гепатопротекторное действие данных веществ.

Впервые установлено, что примененная модель роллерного органотипического культивирования ткани печени тритона *in vitro* может быть использована в качестве экспресс-методики для исследования гепатопротекторной активности веществ. Кроме того, на данной модели впервые было продемонстрировано гепатопротекторное действие пептидов, выделенных из тканей беспозвоночных животных, на ткани позвоночного. Впервые на модели экспериментальной

кожной раны у мышей *in vivo* показано тканеспецифическое ранозаживляющее действие мембранотропных пептидов, выделенных из моллюска пресноводной жемчужницы. В этом исследовании впервые продемонстрирована корреляция между онтогенезом моллюска и проявлением ранозаживляющей активности у выделенных из него МГТБ-подобных веществ. Полученные мембранотропные пептиды могут быть использованы в качестве основы для создания фармакологических ранозаживляющих средств и препаратов с высокой гепатопротекторной активностью.

Достоверность полученных результатов и обоснованность выводов обеспечивалась использованием общепринятых физико-химических методов исследования, а также последовательным логическим построением экспериментальной работы. При проведении данной работы были использованы современные методы исследования белков и пептидов: электрофорез в ПААГ, триптический гидролиз белков, обращенно-фазовая ВЭЖХ, MALDI-TOF масс-спектрометрия, лазерная корреляционная спектроскопия, спектроскопия кругового дихроизма и др. Также достоверность результатов обеспечивалась инструментальной и статистической оценкой погрешности измерений, согласованием полученных результатов с литературными данными, а также согласованием данных, полученных различными методами исследования. Так, принадлежность изучаемых пептидсодержащих фракций к предмету исследования определялась с помощью специфического адгезиометрического метода биотестирования, для дальнейшего изучения и описания состава применялись физико-химические методы, результаты исследования которыми показывали наличие свойств, сходных с проявляемыми МГТБ, ранее выделенными из других объектов. При изучении гепатопротекторных свойств сама идея эксперимента возникла из ранее полученных для МГТБ печени млекопитающих данных об их тканеспецифическом действии. Первоначальная проверка предположения была проведена на модели *in vitro*, в условиях, где ранее действие МГТБ удавалось наиболее наглядно продемонстрировать, затем был проведен эксперимент на

стандартной модели патологии печени на грызунах и в условиях *in vivo* для подтверждения гепатопротекторной активности изучаемых веществ. Модель ранозаживления кожи у мышей *in vivo* была выбрана как стандартная и наиболее удобная для проверки ранозаживляющей активности, которая предполагалась у изучаемой пептидсодержащей фракции согласно данным литературы о свойствах и жизненном цикле объекта исследования. Все численные результаты подвергались статистическому анализу с проверкой свойств распределений полученных данных и применением адекватных статистических критериев оценки.

Результаты исследования опубликованы в 3-х печатных работах в рецензируемых научных изданиях, входящих в перечень ВАК, 6-ти сборниках научных трудов и 3-х тезисах докладов, представлены автором на 9-ти российских и международных конференциях. Диссертация «Мембранотропные пептиды, выделенные из морских беспозвоночных животных и гриба *Fusarium sambucinum*», выполненная Богдановым Всеволодом Владимировичем, полностью соответствует требованиям, установленным п. 14 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК Минобрнауки России (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, с изменениями Постановления Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. № 335 в редакции Постановления Правительства РФ от 2 августа 2016 г. № 748), предъявляемым к диссертационным работам на соискание **ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.01.02. – биофизика и 03.01.06. - биотехнология (в том числе бионанотехнологии).**

Заключение принято на расширенном семинаре лаборатории физиологически активных биополимеров и профильных лабораторий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН.

На заседании присутствовало 14 человек:

Ямсков И.А., д.х.н., зав. лаб.; Тихонов В.Е., к.х.н., с.н.с.; Березин Б.Б., к.х.н., с.н.с.; Фалеев Н.Г., к.х.н., с.н.с.; Пискарёв В.Е., н.с.; Куликова О.Г., к.б.н., н.с.;

Ильина А.П., к.х.н., с.н.с.; Елистратов П.А., к.х.н., н.с. – лаборатория физиологически активных биополимеров ИНЭОС им. А.Н. Несмеянова РАН; Мальцев Д.И., к.б.н., н.с.; Ямскова В.П., д.б.н., в.н.с.; Шарова Н.П.; д.б.н., зав. лаб. – лаборатория биохимии процессов онтогенеза ИБР им. Н.К. Кольцова РАН;

Рыбакова Е.Ю., к.б.н., н.с. – лаборатория проблем физиологии рецепторов и сигнальных систем ИБР им. Н.К. Кольцова РАН;

Григорян Э.Н., д.б.н., зав. лаб. – лаборатория проблем регенерации ИБР им. Н.К. Кольцова РАН;

Домарацкая Е.И., д.б.н., в.н.с. – лаборатория гистогенеза ИБР им. Н.К. Кольцова РАН.

Результаты голосования:

«за» – 14 чел., «против» – 0 чел., «воздержалось» – 0 чел.,

Председатель семинара



к.б.н., н.с. Куликова О.Г.

Секретарь семинара

к.б.н., н.с. Елистратов П.А.