

Заключение диссертационного совета Д 001.022.02 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» Федерального агентства научных организаций России по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

Аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 27 февраля 2018 г. № 99

О присуждении Умняковой Екатерине Сергеевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Модуляция системы комплемента антимикробными пептидами» по специальностям «14.03.03 – патологическая физиология» и «03.01.04 – биохимия» принята к защите 19 декабря 2017 г., протокол № 96 диссертационным советом Д 001.022.02 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» ФАНО по адресу: 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, д. 12 (утвержден приказом Минобрнауки Российской Федерации №105/нк от 11.04.2012).

Соискатель Умнякова Екатерина Сергеевна, 1990 года рождения.

В 2014 году соискатель окончила с отличием биологический факультет Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», получив степень магистра биологии, в 2017 году – очную аспирантуру в отделе общей патологии и патологической физиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» Федерального агентства научных организаций. Диссертация была выполнена в отделе общей патологии и патологической физиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» Федерального агентства научных организаций, где с апреля 2015 года и по настоящее время соискатель работает научным сотрудником.

Научные руководители:

1. Кокряков Владимир Николаевич, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией общей патологии отдела общей патологии и патологической физиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины»;

2. Берлов Михаил Николаевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории общей патологии отдела общей патологии и патологической физиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины».

Официальные оппоненты:

1. Шпаков Александр Олегович, доктор биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной эндокринологии и нейрохимии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова» Российской академии наук;

2. Чурилов Леонид Павлович, кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой патологии медицинского факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России), в своем положительном заключении, подписанным Митрейкиным Владимиром Филипповичем, доктором медицинских наук, профессором кафедры патофизиологии с курсом клинической патофизиологии, и Васиной Любовью Васильевной, доктором медицинских наук, исполняющей обязанности

заведующей кафедрой биологической химии, и утвержденным проректором ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России, академиком РАН, доктором медицинских наук, профессором Полушиным Юрием Сергеевичем указала, что диссертация является научно-квалификационным исследованием по актуальной теме, результаты которой имеют существенное значение для современной патологической физиологии, биохимии и иммунологии. В работе Умняковой Екатерины Сергеевны впервые предпринята попытка исследования антимикробных пептидов как модуляторов системы комплемента, что имеет значение, как для фундаментальной науки, так и для практического применения. Тематика диссертации актуальна и соответствует паспортам заявленных специальностей.

Соискатель имеет 28 печатных работ, в том числе по теме диссертации 24 публикации – 6 статей и 18 тезисов докладов – общим объемом 5,45 условных печатных листов, авторский вклад составил 80%, все статьи по теме диссертации опубликованы в рецензируемых научных изданиях, из которых 1 в отечественном журнале, индексируемом в Scopus и Web of Science, 5 в журналах, включенных в список ВАК. Диссертация не содержит некорректных заимствований.

Наиболее значимые работы:

1. **Умнякова, Е.С.** Дефенсины как регуляторы системы комплемента / Умнякова Е.С., Берлов М.Н., Кокряков В.Н. // Российский иммунологический журнал. – 2014. – Т. 8 (17), № 3. – С. 414-417.

2. Взаимодействие арилицина-1 с белком C1q / Берлов М.Н., **Умнякова Е.С.**, Леонова Т.С., Мильман Б.Л., Краснодембская А. Д., Овчинникова Т. В., Кокряков В.Н. // Биоорганическая химия. – 2015. – Т. 41, № 6. – С. 664–668.

3. Действие антимикробных пептидов на активацию системы комплемента / Берлов М.Н., **Умнякова Е.С.**, Леонова Т.С., Пашинская Л.Д., Кокряков В.Н. // Российский иммунологический журнал. – 2016. – Т.10 (19), № 2 (1). – С. 75-77.

4. Взаимодействие антимикробных пептидов с белком комплемента C1q / **Умнякова Е.С.**, Леонова Т.С., Берлов М.Н., Кокряков В.Н. // Медицинский академический журнал. – 2016. – Т. 16, № 4. – С. 241-242.

5. Берлов, М.Н. Белки и пептиды нейтрофилов в регуляции комплемента / Берлов М.Н., **Умнякова Е.С.**, Кокряков В.Н. // Патогенез. – 2017. – Т. 15, № 1. – С. 19-23.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от:

1. Бельтюкова П.П., кандидата медицинских наук, доцента, заведующего лабораторией молекулярной токсикологии и экспериментальной терапии ФГУП «НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России

2. Гришиной Т.В., кандидата биологических наук, доцента кафедры биохимии биологического факультета Санкт-Петербургского государственного университета

3. Ищенко А.М., кандидата биологических наук, начальника лаборатории биохимии белка ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» ФМБА России

4. Крылова Б.В., доктора биологических наук, профессора, заведующего лабораторией возбудимых мембран ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова» РАН

5. Серебряной Н.Б., доктора медицинских наук, профессора кафедры клинической микологии, аллергологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России

6. Стукачевой Е.А., кандидата биологических наук, старшего научного сотрудника УНЦ ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН

Все отзывы положительные, принципиальных критических замечаний и вопросов не содержат.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается наличием публикаций в соответствующей сфере исследований, широкой известностью своими достижениями в рассматриваемых областях биологических наук.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана новая научная идея о возможности взаимной регуляции системы комплемента и бета-структурных антимикробных пептидов животного происхождения; **предложена** оригинальная тест-система, позволяющая оценить способность антимикробных пептидов связываться с рецепторным белком классического пути комплемента C1q; **доказано** взаимодействие антимикробных пептидов различного видового происхождения: α -дефенсинов человека, протегрина-1 свиньи, ареницина-1 пескожила и тахиплезина-1 мечехвоста с белком комплемента человека C1q и реализация действия антимикробных пептидов на процесс активации комплемента *in vitro*; **введены** новые представления о функциях антимикробных пептидов в организме человека и животных; **сделаны заключения**, значимые для дальнейших исследований в области регуляции системы комплемента природными соединениями с целью коррекции ее работы при различных патологических процессах, а также о перспективности антимикробных пептидов в качестве основы для создания медицинских препаратов способных регулировать систему комплемента.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказано положение о наличии белок-белковых взаимодействий антимикробных пептидов с рецепторной молекулой классического пути комплемента – C1q и о влиянии антимикробных пептидов на активацию комплемента; **применительно к проблематике диссертации результативно** использован широкий спектр высокоточных, современных и оптимальных для решения поставленных задач методов: хроматографические методы, электрофоретические методы, рецепторно-ферментный анализ,

иммуноферментный анализ, метод поверхностного плазмонного резонанса, масс-спектрометрический анализ, спектрофотометрия; **изложены** доказательства взаимодействия антимикробных пептидов α -дефенсина-1 человека, протегрина-1 свиньи, ареницина-1 пескожила и тахиплезина-1 мечехвоста с белком комплемента человека C1q; **приведены** данные об ингибировании активности комплемента в присутствии α -дефенсинов человека *in vitro*; **изучены** особенности влияния гетерологичных антимикробных пептидов: протегрина-1 свиньи, ареницина-1 пескожила и тахиплезина-1 мечехвоста на активацию комплемента *in vitro*; **получены сведения** о снижении антимикробной активности α -дефенсинов человека и дефенсина мухи *Calliphora vicina* в присутствии белка комплемента C1q.

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

разработана модификация модели изучения проницаемости бактериальных мембран при действии мембраноактивных веществ, позволяющая оценивать пермеабилизацию в присутствии сыворотки крови человека; **впервые** для эффективного выделения белка C1q из сыворотки крови человека **предложен** метод аффинной хроматографии с использованием иммунного комплекса, представленного миелопероксидазой человека, иммобилизованной на бромциан-активированной сефарозе, и антителами кролика к миелопероксидазе человека; **разработана оригинальная тест-система** для рецепторно-ферментного анализа с использованием конъюгата белка C1q с пероксидазой хрена; **предложено** использовать гетерологичные антимикробные пептиды в качестве основы для создания фармакологических агентов, способных регулировать активацию комплемента в патологических условиях.

Оценка достоверности результатов выявила:

результаты исследования получены на современном, высокоточном, сертифицированном оборудовании, с использованием методов, оптимально подобранных для решения поставленных задач; воспроизводимость

результатов показана в достаточном числе независимых экспериментов; **теории и идеи**, изложенные в работе, основываются на детальном анализе полученных автором экспериментальных данных, их последовательном сопоставлении с опубликованными ранее результатами, полученными другими исследователями, обобщении и систематизации полученных результатов в сочетании с пониманием фундаментальных положений патологической физиологии, биохимии и иммунологии; **использованы** адекватные современные методы сбора и статистической обработки полученной информации.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии во всех этапах диссертационного исследования. Автор лично сформулировала рабочую гипотезу, самостоятельно получила из сыворотки крови человека белок комплемента C1q в высокоочищенном виде и в количествах, достаточных для проведения экспериментов, а также получила конъюгат этого белка с пероксидазой хрена для проведения рецепторно-ферментного анализа, выделила фракцию α -дефенсинов человека из экстракта лейкоцитов и провела разделение этих пептидов на изоформы с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии, провела лабораторные исследования по оценке взаимодействия белка комплемента C1q с различными антимикробными пептидами, участвовала в организации и выполнении исследований совместно с коллегами из других подразделений для осуществления масс-спектрометрического анализа, а также анализа белок-белковых взаимодействий методом поверхностного плазмонного резонанса, проводила разработку моделей *in vitro* для осуществления оценки влияния антимикробных пептидов на активацию системы комплемента в условиях, частично отражающих патофизиологические процессы, происходящие в организме при активации комплемента в условиях аутоиммунной гемолитической анемии и бактериемии, выполнила статистическую обработку полученных данных, участвовала в их

интерпретации, опубликовании и представлении в виде устных и стендовых докладов на международных и всероссийских научных конференциях.

На заседании 27 февраля 2018 г. диссертационный совет принял решение присудить Умняковой Е.С. ученую степень кандидата биологических наук. При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 25 человек, из них 14 докторов наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология (7 д.б.н. и 7 д.м.н.) и 3 доктора наук по специальности 03.01.04 – биохимия, участвовавших в заседании, из 33 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 3 человека, проголосовали:

За – 25, против – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель диссертационного совета

д.б.н., доцент



Шамова О.В.

Ученый секретарь диссертационного совета

к.б.н., доцент



Алешина Г.М.

27.02.2018 г.

Подпись 
Удостоверяется
Нач.отд.кадров ФГБНУ «ИЭМ»

 Е.А. Никulina