

Федеральное агентство научных организаций

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
(ИНЦ РАН)**

194064 Санкт-Петербург, Тихорецкий пр., 4
тел. (812) 297-18-34, факс: (812) 297-35-41,
эл.адрес: cellbio@incras.ru; <http://www.cytspb.rssi.ru/>

ИНН 7802030531, КПП 780201001
УФК по г. Санкт-Петербургу (Отдел № 3, ИНЦ РАН),
л/с 20726Ц41010, Северо-Западное ГУ Банка России
р/с 40501810300002000001, БИК 044030001

23.04.2018 № 12.916-662-172
На № _____ от 16.04.2018



Директор ФГБУН ИНЦ РАН

С.О. Скарлато

« 04 » 2018 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии Российской академии наук (ФГБУН ИНЦ РАН) на диссертацию **Логашиной Юлии Александровны** на тему **«Пептиды морских анемон, модулирующие активность TRPA1 рецепторов»**, представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 — биоорганическая химия.

Рецептор TRPA1 участвует в регуляции нейrogenного воспаления. Он экспрессируется в чувствительных нейронах, иннервирующих различные ткани и органы. Активация TRPA1 в дыхательной системе вредными летучими соединениями (изотиоцианаты, слезоточивый газ) или аллергенами вызывает чихание, кашель и образование слизи. Местное применение агонистов рецептора стимулирует развитие механической и термической гиперчувствительности, а гиперэкспрессия TRPA1 в коже приводит к возникновению хронического зуда. Эндогенные агонисты рецептора (H_2O_2 , брадикинин) образуются в организме при воспалении или бактериальной инфекции. Также в ответ на нейровоспалительные сигналы в нейронах повышается уровень экспрессии TRPA1. Таким образом, рецептор является важной терапевтической мишенью, а его изучение способствует пониманию механизмов возникновения и восприятия боли и воспаления.

Целью диссертационного исследования Логашиной Ю.А. стал поиск, выделение и характеристика пептидов морских анемон, модулирующих активность TRPA1 рецептора. **Актуальность** работы не вызывает сомнений, поскольку в настоящее время не найдено селективных пептидных модуляторов рецептора, способных служить инструментами в исследовании участия TRPA1-экспрессирующих нейронов в физиологических и патологических состояниях.

Научная новизна диссертации определяется следующими результатами. В настоящей работе были впервые выделены и охарактеризованы пептидные позитивные модуляторы TRPA1, обладающие анальгетическим и противовоспалительным эффектами *in vivo*. Механизм действия пептидов может представлять собой новую терапевтическую стратегию: потенцирование рецептора приводит к ингибированию нейрогенного воспалительного ответа, вследствие десенситизации TRPA1-экспрессирующих нейронов. Десенситизированные нейроны не способны отвечать на действие селективного агониста рецептора, что согласуется с наблюдаемым анальгетическим эффектом *in vivo*. Такой же эффект может быть достигнут после применения селективного антагониста TRPA1 в высоких концентрациях.

Впервые было продемонстрировано, что десенситизация TRPA1-экспрессирующих нейронов может снижать воспаление и термическую гиперчувствительность в модели воспаления в ответ на введение полного адьюванта Фрейнда. Данный эффект отличает потенцирующее действие пептидов от действия низкомолекулярных антагонистов.

Кроме того, в работе описан новый класс токсинов морских анемон, к которому относится один из выделенных пептидов. Токсин содержит 10 остатков цистеина и не имеет гомологов среди известных охарактеризованных нейротоксинов морских анемон. Определена уникальная пространственная структура первого представителя 12-й подгруппы цистеин-богатых полипептидов морских анемон, которая похожа на укладку дефензин-подобных пептидов.

Достоверность и обоснованность результатов не вызывают сомнений. Автором использованы современные методы лабораторных исследований, грамотно спланированные эксперименты и корректные способы статистической обработки материала. Проведен анализ большого количества экспериментальных данных. Выводы диссертации полностью соответствуют поставленной цели и задачам.

Результаты диссертационной работы представлялись автором на международных и российских научных конференциях и опубликованы в 3 периодических научных изданиях, рекомендованных Министерством образования и науки Российской Федерации

для опубликования результатов диссертационных работ. Кроме того, по результатам диссертации получен патент. Автореферат и опубликованные работы в полном объеме отражают содержание диссертации и дают представление о структуре проведенного исследования и его результатах.

Представленная работа имеет **теоретическое и практическое научное значение** как с точки зрения изучения функций TRPA1 в физиологических и патологических состояниях, так и в связи с возможным использованием позитивных модуляторов рецептора в качестве основы для создания новых анальгетических препаратов. Охарактеризованные в диссертационной работе пептиды, являясь селективными модуляторами, могут быть использованы в структурно-функциональных исследованиях рецептора. Результаты диссертационной работы Логашиной Ю.А. дополняют современные представления о механизмах уменьшения болевого сигнала, опосредованного активацией TRPA1, и вносят вклад в развитие фундаментальной и прикладной биомедицины.

Диссертация Логашиной Ю.А. построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части («материалы и методы»), изложения результатов и их обсуждения, выводов и списка цитированной литературы, включающего 360 источников. Работа иллюстрирована 38 рисунками и содержит 4 таблицы.

В первой вводной главе обоснована актуальность темы исследования, сформулирована цель и перечислены поставленные задачи.

Во второй главе представлен обзор отечественных и зарубежных публикаций по теме диссертации. Описаны механизмы восприятия боли, участие рецепторов TRP семейства в передаче болевых сигналов и их физиологические функции. Автором проведен исчерпывающий анализ известных литературных данных о рецепторе TRPA1, его физиологических функциях, патологических процессах с его участием и известных природных и синтетических модуляторах рецептора. В главе также представлены модуляторы, которые являются кандидатами в клинические исследования, и описан возможный механизм их действия на чувствительные нейроны. В целом обзор оставляет хорошее впечатление и свидетельствует о детальном знакомстве автора с областью знаний, к которой принадлежит это исследование.

В третьей главе содержится подробное и тщательное описание всех использованных в работе методических подходов. Методическая часть работы, безусловно, очень сильная: автор применил множество современных методов, начиная от

тонкого владения химическими методами и масс-спектрометрией, до генной инженерии, электрофизиологических подходов и тестирования на животных моделях.

В четвертой главе изложены полученные автором результаты и их обсуждение. Из представленных материалов следует, что диссертантом проведена масштабная работа по исследованию биологической активности найденных пептидных модуляторов TRPA1 как *in vitro*, так и *in vivo*. В процессе исследования было обнаружено, что найденные в ядах морских анемон *Metridium senile* и *Urticina eques* пептиды являются селективными модуляторами рецептора TRPA1, они потенцируют агонист-индуцированную активацию рецептора в электрофизиологических исследованиях на ооцитах лягушки *Xenopus laevis*, экспрессирующих TRPA1. Было показано также, что пептид из яда *U. eques* обладает умеренным антимикробным эффектом в отношении *S. glutamicum*. На мышинных моделях оба пептиды демонстрировали значительный анальгетический и противовоспалительный эффекты.

Выводы диссертации сформулированы грамотно и вытекают из полученных результатов работы.

Резюмируя вышеизложенное, можно сделать заключение, что Логашина Ю.А. успешно решила поставленные перед ней задачи и при этом проявила себя как высококвалифицированный специалист, владеющий широким арсеналом современных методов исследования в области биоорганической химии, биохимии, молекулярной биологии.

По диссертации имеется несколько **вопросов и замечаний**:

1. В обзоре литературы не приведены конкретные действующие концентрации известных модуляторов TRPA1, поэтому сравнение их с полученными новыми пептидными модуляторами крайне затруднительно.
2. В работе отсутствует сравнение анальгетического эффекта в моделях *in vivo* выделенных пептидных модуляторов рецептора с известными антагонистами TRPA1.
3. В заключение обзора литературы недостает раздела, подводящего читателя к пониманию необходимости проведенного исследования.
4. В работе имеется значительное количество орфографических и синтаксических ошибок.

Данные замечания не носят принципиального характера и не снижают общую высокую оценку диссертации.

Диссертационная работа Логашиной Юлии Александровны соответствует критериям, установленным «Положением о присуждении ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650), а ее автор заслуживает присвоения искомой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 — биоорганическая химия.

Отзыв обсужден и одобрен на совместном семинаре Лаборатории ионных каналов клеточных мембран и Лаборатории ионных механизмов клеточной сигнализации Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института цитологии РАН, протокол № 3 от 18 апреля 2018 г.

Доктор биологических наук,
главный научный сотрудник Лаборатории
ионных каналов клеточных мембран

Казначеева Елена Валентиновна

Контактная информация о составителе отзыва:

Казначеева Елена Валентиновна
доктор биологических наук, главный научный сотрудник
лаборатории ионных каналов клеточных мембран
Федерального государственного учреждения науки
Институт цитологии Российской академии наук (ФГБУН ИНЦ РАН),
194064, Санкт-Петербург, Тихорецкий проспект, 4
+7 (812) 297-14-97
evkazn@incras.ru

Подпись д.б.н. Казначеевой Е.В.

«Удостоверяю»

Ученый секретарь ФГБУН ИНЦ РАН

к.б.н. **Горяева И.И.**

