Отзыв

официального оппонента на диссертацию Василевского Александра Александровича «Токсины паукообразных: многообразие, фундаментальные и прикладные аспекты», представленную на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 1.4.9 – «Биоорганическая химия»

Выбранная автором диссертации тема, несомненно, представляется актуальной как с фундаментальной, так и практической точек зрения. Действительно, во-первых, некоторые паукообразные опасны для здоровья человека, а потому для разработки средств терапии отравлений необходимо понимание механизма действия яда; во-вторых, токсины паукообразных уже послужили мощными исследовательскими инструментами для раскрытия молекулярных основ функционирования нервной системы, и их значение и способы применения в дальнейшем будут только расти; и, наконец, в-третьих, некоторые токсины могут прийти в медицинскую практику как средства диагностики или лечения заболеваний неврологических расстройств. В качестве подтверждения сказанного можно привести пример недавних публикаций, в том числе с участием А.А. Василевского, о разработке новых противоядий для лечения латродектизма.

Молекулярные инструменты, разработанные А.А. Василевским на основе токсинов паукообразных, оказались востребованными и получили распространение в научном сообществе. К примеру, химеры токсинов и флуоресцентных белков были использованы для локализации калиевых каналов, играющих важную роль в развитии аутоиммунных заболеваний. Следует подчеркнуть, что разработка анальгетиков на основе открытых А.А. Василевским пуротоксинов признается одним из фундаментальных достижений в области поиска обезболивающих препаратов с принципиально новым механизмом действия.

Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, всесторонне и очень подробно обоснованы. А.А. Василевский постарался снабдить свою работу подробным описанием методик, использованных для получения описываемых результатов. Так, например, глава «Материалы и методы» написана исключительно подробно и содержит 57 страниц. Каждому положению, выносимому на защиту, соответствует специальный раздел диссертации, подробно излагающий аргументацию в пользу представляемого заключения и выводов. Результаты обильно иллюстрированы: в этой части работы 90 рисунков. Отмечу также, что основные положения и выводы диссертации прошли независимую экспертизу: все они опубликованы в ведущих рецензируемых научных журналах; по результатам работы опубликовано 80 печатных научных работ и 5 патентных заявок. Достоверность результатов диссертации не вызывает сомнений и подтверждается статистическим анализом; применение соответствующих критериев скрупулезно описано.

Можно привести список результатов высокого уровня, полученных диссертантом впервые в мире. Большой массив из них касается получения уникальных лигандов ионных каналов. Впервые получены селективные блокаторы всех чувствительных к действию токсинов скорпионов изоформ потенциал-зависимых K^+ каналов Kv1. При этом впервые использованы различные подходы: поиск и выделение из природного источника, модификация уже известных блокаторов, а также скаффолд-инженерия. Впервые получен лиганд потенциал-чувствительного домена I повтора Na^+ каналов, который, кроме того, способен ингибировать «ω-токи» в мутантных каналах. Впервые получены селективные модуляторы Na^+ каналов насекомых, воздействующие одновременно на процессы активации и инактивации. Впервые получен «мягкий» ингибитор Ca^{2+} каналов P-типа, замедляющий их активацию. Впервые получены природные селективные ингибиторы P2X3 рецепторов. Впервые получены генетически кодируемые флуоресцентные лиганды потенциал-чувствительных и лиганд-активируемых

ионных каналов. Впервые получены светоуправляемые поровые блокаторы глутаматных рецепторов AMPA-типа. Новизна результатов А.А. Василевского подтверждается анализом научной литературы.

Остановлюсь подробней на некоторых вопросах и замечаниях по существу диссертации.

1. При всей комплексности проведенного исследования и внушительном объеме диссертации им не хватает анализа биологической функции, физиологической значимости изученных ядов и токсинов. Какова функция, каково значение каждой изученной группы токсинов в каждом конкретном случае? Они служат оружием нападения или средством защиты, являются главными или второстепенными, вспомогательными компонентами яда? Работа получилась очень, может быть, чересчур, химической: токсины рассматриваются в соответствии с их строением или молекулярным механизмом действия, не хватает биологизма — рассмотрения собственно функции в природе, физиологической роли этих биомолекул в живых организмах.
2. Один из лейтмотивов Обзора литературы — токсины паукообразных как перспективные инсектициды (специальный раздел 1.19.1. Токсины паукообразных как инсектициды). Этой темы диссертант касается в Результатах и обсуждении лишь вскользь, при разборе агатоксинов и альфа-токсинов скорпионов. Видит ли он реальную перспективу этих токсинов как пестицидов? В чем их преимущества и недостатки в сравнении с известными аналогами? Быть может, отличается как раз их физиологический эффект?
3. Число и разнообразие обнаруженных, выделенных и исследованных А.А. Василевским токсинов не может не удивлять. При этом подчас выбрана мишень для анализа действия токсинов, не имеющая отношения к реальной ситуации в природе. Автору стоило бы в каждом случае пояснить свой выбор. К примеру, очень часто мишенью выступают белки

человека, в то время как большинство токсинов паукообразных нацелены на насекомых. Еще более показателен случай пуриноцепторов (раздел 3.9. Пуротоксины — компоненты яда пауков, воздействующие на P2X рецепторы): у насекомых ведь нет даже гомологов этих белков.

4. Выбор мишени для изучения действия токсинов требует вдумчивого анализа. Например, почему именно потенциал-зависимым калиевым каналам, притом конкретному их семейству и, более того, конкретным подтипам отводится столько внимания (раздел 3.5. Токсины паукообразных, воздействующие на K^+ каналы)? Что известно об их физиологической функции и роли в качестве мишени токсинов? Аналогичные пояснения нужны и в других случаях: как выбраны определенные изоформы натриевых и кальциевых каналов (разделы 3.7. Токсины паукообразных, воздействующие на Na^+ каналы и 3.8. ω-Lsp-IA — уникальный модулятор Ca^{2+} каналов)?
5. Если в Обзоре литературы эволюции токсинов и состава ядов отводится специальный раздел (1.17), то в Результатах и обсуждении автор касается этой темы только в связи с так называемыми «модульными» токсинами (раздел 3.12). Почему так получилось? Ведь в соответствии с известной максимой Добржанского в биологии ничто не должно рассматриваться в отрыве от эволюции.
6. Несколько поверхностное отношение к физиологическим аспектам присутствует и при анализе главного проявления ядов и их компонентов — токсичности. В большинстве случаев говорится просто о «токсичности» или «смертности», иногда о «паралитическом действии», однако почти нигде не сообщается о способе реализации токсичности или виде паралича, а ведь эти сведения важны для идентификации мишени токсинов.
7. Подробности физиологического действия обсуждаются в диссертации, пожалуй, лишь дважды: при описании токсина скорпиона, сенситизирующего ноцицепторы (раздел 3.7.5. Воздействие α-NaTx на

внутриклеточные сигнальные каскады), а также пептидов из яда пауков, ингибирующих пуриноцепторы. Однако и в этих случаях автор ограничивается беглым описанием некоторых симптомов отравления или результатов болевых тестов. Вместе с тем, в обоих случаях именно физиологический статус животного, которому ввели изучаемый препарат, служит важнейшим индикатором механизма действия и специфичности токсина.

8. При описании активности токсинов на ионные каналы почти везде приводятся значения IC_{50} или EC_{50}, а вот коэффициент Хилла упоминается не всегда. Однако наклон кривой «доза–ответ» или кооперативность действия лигандов на белки — важный параметр, указывающий на молекулярный механизм действия токсинов, их способ взаимодействия с мишенью. Интересно было бы узнать мнение диссертанта относительно различий коэффициента Хилла для сходных соединений, воздействующих на одну мишень, или одного и того же соединения, воздействующего на близкие мишени (например, см. рисунок 59Б).
9. А.А. Василевским разработан внушительный список селективных молекулярных инструментов — лигандов определенных подтипов ионных каналов. Во многих случаях не только описана активность этих соединений, изучена их селективность, но и проиллюстрированы способы использования. Однако и здесь немного не хватает биологического (физиологического) взгляда. Взять хотя бы пример фотопереключаемых блокаторов глутаматных рецепторов (раздел 3.13. Ацилполиамины — инструменты изучения глутаматных рецепторов). Автор элегантно показывает путь, приведший к их созданию — от изучения структуры природных токсинов еще Е.В. Гришиным, через анализ пространственной структуры их комплекса с рецептором — к дизайну светоуправляемых искусственных соединений. В работе приведены записи токов, полученные на препаратах среза мозга крыс (рисунок 129Б, В). Однако почти не раскрывается, в каких именно исследованиях изобретенные

фотопереключатели могут быть полезны. Какие именно новые или недостаточно изученные функции этих важнейших для физиологии центральной нервной системы белков мы можем исследовать? Аналогичные вопросы касаются изобретенных автором химер токсинов с флуоресцентными белками (раздел 3.10): где именно их стоит использовать, для изучения каких физиологических процессов с участием соответствующих ионных каналов?

10. Одно из неоспоримых достижений А.А. Василевского — демонстрация способности токсинов угнетать так называемые «омега-токи», протекающие через мутантные каналы, описанные у больных параличами (раздел 3.7.2. Токсин Hm-3 — основа для создания лекарства от периодического паралича). Вместе с тем применимость изученного токсина Hm-3 ведь существенно ограничена? Как автор видит дальнейший путь клинической разработки и видит ли перспективу этого направления вообще?
11. Наиболее любопытны открытые диссертантом пуротоксины, которые предлагается использовать для разработки нового поколения анальгетиков. Эти результаты опубликованы в самых престижных журналах. Насколько мне известно, разработкой лекарства занимается одна из самых профессиональных команд в России. А потому тем более интересно узнать, от каких именно болевых синдромов предполагается лечить с помощью пуротоксинов? Чем обусловлен выбор? Каковы сведения о (пато)физиологической роли пуриноцепторов в этих состояниях? Каковы ограничения использования их низкомолекулярных лигандов? Наконец, помимо клиники, где еще могут пригодиться пуротоксины?

Высказанные замечания и соображения, а также вопросы к диссертанту никак не умаляют его достижений и не снижают прекрасного общего впечатления от этой фундаментальной работы. Они приводятся здесь как взгляд коллеги - оппонента и физиолога. Хочу надеяться, что эти замечания и соображения помогут А.А. Василевскому в дальнейших изысканиях.

Диссертационная работа Василевского Александра Александровича, несомненно, соответствует критериям (в том числе п. 9), установленным «Положением о присуждении ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 со всеми последующими изменениями), а сам диссертант — молодой и перспективный ученый полностью заслуживает присвоения искомой степени доктора химических наук по специальности 1.4.9 – «Биоорганическая химия».

Официальный оппонент

Островский Михаил Аркадьевич, д.б.н., академик РАН, заведующий лабораторией физико-химических основ рецепции Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук (ИБХФ РАН)

«22» октября 2026 г.

Почтовый адрес: 119334, Москва, ул. Косыгина, д. 4
Телефон: 8 (495) 939-73-57
E-mail: ostrovsky3535@mail.ru

Подпись М.А. Островского удостоверяю

Ученый секретарь ИБХФ РАН, к.б.н. _____ / С.И. Скалацкая /

М.П.