

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.038.01,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТА БИОХИМИЧЕСКОЙ
ФИЗИКИ ИМ. Н.М. ЭМАНУЭЛЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК ПО
ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК
аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 20.11.2024 г., № 9

О присуждении Юриной Любови Владимировне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Окислительная модификация фибриногена: влияние на структуру и функцию» по специальности 1.5.2. Биофизика принята к защите 10 июля 2024 г. (протокол заседания № 7) диссертационным советом 24.1.038.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук по адресу: 119334, Российская Федерация, г. Москва, ул. Косыгина, д. 4; приказ Министерства образования и науки №105/нк от 11 апреля 2012 года.

Соискатель – Юрина Любовь Владимировна, 30 июля 1991 года рождения, в 2014 году окончила Педагогический институт им. В.Г. Белинского Пензенского государственного университета по специальности «биохимия». С 01 октября 2016 года по 01 октября 2020 года обучалась в аспирантуре Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук по специальности 1.5.2. Биофизика (03.01.02 – биофизика). С 2016 года по настоящее время работает в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук в лаборатории термодинамики биосистем в должности младшего научного сотрудника.

Диссертация выполнена в лаборатории термодинамики биосистем Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук.

Научный руководитель – доктор биологических наук, профессор **Розенфельд Марк Александрович**, заведующий лабораторией термодинамики биосистем Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

Топунов Алексей Федорович, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией биохимии азотфиксации и метаболизма азота Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук»;

Коваленко Татьяна Александровна, кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник лаборатории внутриклеточной сигнализации и системной биологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Центра теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук (г. Санкт-Петербург), в своем положительном заключении, составленном заведующим лабораторией «Клеточные механизмы гомеостаза крови», главным научным сотрудником, доктором биологических наук Миндукшевым Игорем Викторовичем и утвержденном директором Института, членом-корреспондентом РАН, доктором биологических наук Фирсовым Михаилом Леонидовичем, отмечает актуальность, научную новизну и практическую значимость работы, в которой подробно рассмотрена структура фибриногена и выявлены как реакционные, так и устойчивые участки молекулы фибриногена к окислителям с различной

реакционной способностью. Впервые показано, что центральная E-область фибриногена наиболее устойчива к окислению, в то время как периферические D и α C-области молекулы фибриногена уязвимы к действию окислителей. Показано, что наиболее функционально значимые сайты толерантны к действию окислителей, а окислительная модификация ряда остатков метионина не влияет на функциональные свойства этой молекулы. Развернутое исследование посттрансляционных модификаций фибриногена *in vitro* дает существенное понимание вклада окислительных процессов при образовании аномальной структурной организации фибринового геля и последующем замедлении его лизиса.

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Теоретические положения согласуются с экспериментальными данными, в том числе с результатами других исследователей.

Представленные в работе выводы полностью соответствуют полученным результатам и подтверждают выдвинутые автором предположения.

Диссертационная работа Юриной Любови Владимировны «Окислительная модификация фибриногена: влияние на структуру и функцию» представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой содержится решение задачи, имеющей существенное значение для биологии и медицины. Диссертация отвечает требованиям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 с изменениями Постановления Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. № 335, в ред. Постановления Правительства РФ от 01 октября 2018 г. № 1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Юрина Любовь Владимировна заслуживает присвоения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. Биофизика.

Материалы диссертации представлены автором в виде устных и стендовых докладов на российских и международных научных конференциях, форумах и конгрессах. Основные положения диссертационного исследования отражены в 20 научных публикациях: из них 7 в международных и российских рецензируемых

научных изданиях, рекомендованных ВАК, и 13 тезисов в сборниках трудов международных научных конференций.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. **Yurina, L.V.** Ozone-induced damage of fibrinogen molecules: identification of oxidation sites by high-resolution mass spectrometry / L.V. Yurina, A.D. Vasilyeva, M.I. Indeykina, A.E. Bugrova, M.I. Biryukova, A.S. Kononikhin, E.N. Nikolaev, M.A. Rosenfeld // **Free Radical Research**. – 2019. – V. 53, № 4. – P. 430-455.

2. **Розенфельд, М.А.** Функциональная роль окисления метионинов в белках: аргументы “за” и “против” / М.А. Розенфельд, Л.В. Юрина, А.Д. Васильева // **Успехи современной биологии**. – 2021. – Т. 141, № 4. – С. 315–335.

3. **Yurina, L.V.** A role of methionines in the functioning of oxidatively modified fibrinogen / L.V. Yurina, A.D. Vasilyeva, E.S. Gavrilina, V.S. Ivanov, S.I. Obydennyi, I.A. Chabin, M.I. Indeykina, A.S. Kononikhin, E.N. Nikolaev, M.A. Rosenfeld // **BBA-Proteins&Proteomics**. – 2024. – V. 1872, № 4. – 141013.

На автореферат поступило 3 положительных отзыва:

1) отзыв д.б.н. **Тронова Виктора Александровича**, старшего научного сотрудника лаборатории физической химии биополимеров Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук без замечаний; 2) в отзыве к.х.н. **Сиголаевой Ларисы Викторовны**, ведущего научного сотрудника кафедры химической энзимологии химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова критические замечания отсутствуют; 3) отзыв к.б.н. **Евтушенко Екатерины Алексеевны**, старшего преподавателя кафедры вирусологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова. В качестве замечаний к оформлению автореферата был отмечен

слишком мелкий текст к легенде графиков рисунка 3, а также наличие краткого содержания глав диссертации в начале раздела «Основное содержание работы».

В отзывах отмечено, что тема диссертации является крайне актуальной, полученные в работе результаты имеют как теоретическую, так и практическую значимость в области исследований окислительной модификации плазменных белков. Результаты и выводы работы соответствуют поставленным задачам, их достоверность не вызывает сомнений.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обоснован их специализацией по тематике настоящей диссертационной работы и достижениями в области исследований структуры белков, физиологии и биофизики крови, биохимии свободнорадикальных процессов, а также наличием публикаций в соответствующей сфере исследования, что позволяет им оценить теоретическую и практическую значимость диссертации.

Оппонент д.б.н. Топунов А.Ф. является ведущим специалистом в области исследований влияния активных форм кислорода и азота, и активных карбонильных соединений на эритроциты и гемоглобин. Оппонент к.б.н. Коваленко Т.А. – признанный специалист в области регуляции и компьютерного моделирования процессов в системе свертывания крови. Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук является одним из крупнейших российских научно-исследовательских центров в области физиологии и биохимии человека и животных, в том числе в области клеточных механизмов гомеостаза крови, включающие исследование системы свертывания крови и функций тромбоцитов при воспалительных процессах.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана научная концепция, объясняющая механизм функционирования плазменных белков под воздействием окислителей при практически полном отсутствии в плазме крови систем антиоксидантной защиты, согласно которой

ряд легко окисляемых остатков метионина выполняет роль перехватчиков АФК, тем самым экранируя функционально значимые участки;

предложена научная гипотеза, согласно которой окисление некоторых остатков метионина до метионина сульфоксида является преобладающим механизмом, способным защитить молекулу фибриногена от функционального повреждения в кровотоке при развитии окислительного стресса;

доказано, что остатки метионина, модификация которых не оказывает влияния на функциональные свойства фибриногена, являются внутримолекулярными перехватчиками АФК.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказано, что механизм защиты плазменных белков от токсического действия АФК благодаря наличию антиоксидантных остатков метионина подтвержден экспериментальными данными, согласно которым ряд остатков метионина в молекуле фибриногена выполняет роль внутримолекулярных перехватчиков АФК. Изучение окислительной модификации фибриногена *in vitro* вносит значительный вклад в исследование адаптации структуры плазменных белков к воздействию окислителей;

применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс современных физико-химических методов анализа для исследования структуры и функционирования белков: электрофорез ПААГ, спектрофотометрия, ферментативный гидролиз белков, упругое светорассеяние, конфокальная лазерная сканирующая микроскопия, высокоэффективная жидкостная хроматография, совмещенная с тандемной масс-спектрометрией;

изложены экспериментальные данные, свидетельствующие об изменении функциональных свойств фибриногена при окислении. Сопоставление этих данных с детектированными сайтами посттрансляционных модификаций позволило определить вклад данных окислительных модификаций в аномальную структурную организацию фибринового геля, снижение скорости образования и лизиса сгустка;

раскрыты общие закономерности влияния окисления, индуцированного окислителями с различной реакционной способностью (O_3 , $HOCl/OCl$ и H_2O_2) на молекулу фибриногена: центральная E-область фибриногена демонстрирует наибольшую резистентность к окислению; периферические D- и α C-области проявляют высокую уязвимость к действию окислителей; функционально значимые сайты фибриногена, ответственные за связывание тромбина и сборку протофибрилл фибрина, толерантны к действию окислителей;

изучены функции фибриногена с использованием комплекса биохимических методов при разных концентрациях окислителя, что позволяет установить влияние детектированных окислительных модификаций на нарушение структуры фибрина, процесса полимеризации фибринового геля и его лизиса.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что

определены модификации фибриногена, затрагивающие легко окисляемые аминокислотные остатки, окисление которых не влияет на его функционирование. Эти данные могут быть использованы для получения информации об уровне окислительного стресса в организме, с целью мониторинга развития заболевания или ответа на проведенную терапию при состояниях, сопровождающихся патологически высоким уровнем АФК;

представлены данные о взаимосвязи окислительных модификаций с изменениями в функционировании фибриногена, которые дают новое понимание связи между возникновением посттрансляционных модификаций фибриногена, тромбозом и другими патологическими состояниями, связанными с изменениями функциональных свойств фибриногена при окислении.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ результаты получены на сертифицированном оборудовании с применением современных биофизических методов исследования белков, стандартных методик обработки результатов; показана воспроизводимость результатов; сформулированные в диссертации научные положения и выводы подтверждаются экспериментальными данными;

теория основана на известных литературных данных в области исследования окислительной модификации белков;

идея базируется на анализе массива экспериментальных и литературных данных в области исследования структуры и функции молекулы фибриногена, а также данных о механизмах адаптации клеточных и внеклеточных белков к воздействию окислителей;

использованы авторские данные и данные, опубликованные ранее по рассматриваемой тематике;

установлено, что полученные автором результаты согласуются с данными, представленными в независимых источниках по исследованию воздействия окисления на структуру белков (в частности фибриногена);

использованы современные методы сбора, статистической обработки и анализа полученных данных, в том числе программы для анализа масс-спектров (PEAKS Studio v. 8.5, Bioinformatics Solutions Inc., Waterloo, ON, Canada); OriginPro для статистической обработки и построения графиков и VMD - Visual Molecular Dynamics (Theoretical and Computational Biophysics Group, NIH Center for Macromolecular Modeling and Bioinformatics, at the Beckman Institute, University of Illinois at Urbana-Champaign) для визуализации белковой структуры.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах работы, в том числе в анализе литературных данных, планировании, подготовке и проведении научных экспериментов, обработке полученных результатов с помощью специализированного программного обеспечения и их интерпретации, представлении результатов исследования на конференциях и семинарах, а также подготовке публикаций по результатам работы.

В ходе защиты диссертации не было высказано критических замечаний.

Диссертация Юриной Л.В. «Окислительная модификация фибриногена: влияние на структуру и функцию» представляет собой законченную научно-квалификационную работу и удовлетворяет требованиям, изложенным в пунктах 9–14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного

Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (ред. от 25.01.2024).

На заседании 20 ноября 2024 года диссертационный совет принял решение присудить Юриной Любови Владимировне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 7 докторов наук по специальности 1.5.2. Биофизика, участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение ученой степени – 19, против присуждения ученой степени – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель
диссертационного
совета, д.х.н.



Трофимов Алексей Владиславович

Ученый секретарь
диссертационного
совета, к.х.н.

Мазалецкая Лидия Ивановна

20 ноября 2024 года