

О Т З Ы В

официального оппонента, профессора, доктора биологических наук, профессора кафедры коррекционной педагогики Академии психологии и педагогики Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Южный федеральный университет» Менджерицкого Александра Марковича на диссертационную работу Клыченкова Сергея Викторовича «Биологическая активность низкомолекулярных пептидов из продуктов пчеловодства», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 — Биохимия

Актуальность темы диссертационного исследования

Проблема изучения путей биохимической регуляции и сигнализации, в том числе пептидной, остается одной из наиболее актуальных, поскольку не все эндогенные регуляторные пептиды описаны и изучены, в т.ч., с точки зрения их функционала. Интерес к данной группе биохимических регуляторов постоянно растет. В литературе обсуждаются вопросы, касающиеся использования продуктов распада эволюционно консервативных белковых молекул для применения их в фармакологии (лечения нейродегенеративных заболеваний, ожирения, сердечно-сосудистых и других заболеваний), а также оптимизации восстановительных процессов после перенесенного стресса. Это касается и экзогенных регуляторных пептидов, которые перорально или интраназально попадают в организм.

Сложность и комплексность пептидной регуляции многие годы являлись предметом изучения ак. РАМН И.П. Ашмарина и его учеников, коллег. Особое внимание в его работах уделялось нейропептидам, влияющим на работу нейромедиаторных систем, и в целом, на организм, поведение человека. Возрастные изменения в синтезе и секреции пептидных регуляторов подробно описаны в

работах сотрудников СПб ОО «СПб Институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН».

Таким образом, раскрытие механизмов, лежащих в основе пептидной регуляции адаптации организма, является актуальной проблемой, на решение которой направлены усилия многих современных ученых в области нейробиологии.

В этом плане представляет огромный интерес пептиды, выделенные из природных источников, в том числе, продуктов пчеловодства (маточное молочко, пчелиный мед и трутневый расплод). Как исходное сырье данные продукты могут представлять интерес для фармакологии: выделенные из данного сырья пептиды являются потенциальными биорегуляторами, которые могут быть основой для фармакологических препаратов с иммуномодулирующим действием, а также препаратов, используемых в кардиологии, гастроэнтерологии, неврологии и т.д.

Таким образом, тема диссертационного исследования Клыченкова С. В. является актуальной с теоретической и практической точки зрения.

Достоверность и новизна научных положений, выводов и заключений

Степень достоверности результатов не вызывает сомнений: они получены с использованием современных биохимических методов (высокоэффективной жидкостной хроматографии, электрофореза, иммуноферментного анализа). Ферментативная активность карбоксипептидазы E, пептидил-дипептидазы A в различных образцах тканей экспериментальных животных, общая дегидрогеназная и каталазная активность *S. aureus* и *E. coli* определена классическими методами энзимологии. Результаты исследования обработаны с использованием стандартных статистических методов, применяемых для медицинских и биологических исследований.

Постановка эксперимента и его содержательная часть, а также корректная статистическая обработка полученных экспериментальных данных положительно характеризуют качество выполнения диссертационного исследования.

Полученные соискателем результаты подробно изложены в главе 3 и обсуждены в главе 4 на основе фактологического материала с использованием современных данных литературы по теме исследования.

Поставленная цель адекватна решению задач исследования. Сформулированные выводы на основе полученных результатов соответствуют поставленной цели исследования.

Основные результаты диссертационного исследования доложены на конференциях международного и всероссийского уровня и опубликованы в 14 печатных работах, 4 из которых – в журналах, входящих в Перечень рецензируемых научных изданий, публикующих основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук по соответствующей заявленной специальности.

Научная новизна диссертационной работы определяется тем, что автором впервые охарактеризован спектр низкомолекулярных пептидов маточного молочка, пчелиного меда и трутневого расплода; впервые показана способность пептидов с массой до 5 кДа, выделенных из маточного молочка и трутневого расплода, оказывать влияние на поведение экспериментальных животных в условиях хронического стресса (снижать уровень тревожности); впервые показана способность низкомолекулярных пептидов продуктов пчеловодства влиять на активность карбоксипептидазы E (КФ 3.4.17.10) и пептидил-ди-пептидазы A (КФ 3.4.15.1) в отделах головного мозга экспериментальных животных; впервые показано, что низкомолекулярные пептиды маточного молочка и трутневого расплода влияют на общую дегидрогеназную и каталазную активность *E. coli* и *S. aureus*. Также автором установлено, что антибактери-

альный эффект продуктов пчеловодства является совокупностью разных факторов; новизна этого открытия заключается в использовании автором нового методического подхода для выделения и очистки низкомолекулярных пептидов из продуктов пчеловодства.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций соискателя подтверждается подробным и написанным научным языком обзором литературы по теме исследования, корректно разработанной схемой эксперимента и статистической обработкой полученных результатов, используемой для медицинских и биологических исследований. Этапы диссертационного исследования логически изложены в работе, выводы не противоречат современным научным представлениям в изучаемой области науки, а также поставленной цели исследования.

На основе сказанного можно заключить, что диссертационное исследование С.В. Клыченкова является законченной полноценной научно-квалификационной работой, а совокупность проведенного теоретического и экспериментального исследования позволила соискателю сформулировать обоснованные выводы.

Теоретическая и практическая значимость результатов исследования

Выявленные особенности анксиолитической активности пептидов, выделенных из продуктов пчеловодства, дополняют существующие представления о биологической активности пептидов. Теоретическую значимость имеют также результаты исследования ферментативной активности у микроорганизмов и экспериментальных животных, а именно специфика ее изменения под действием низкомолекулярных пептидов, выделенных из маточного молочка и трутневого расплода.

Практическая значимость работы заключается в возможности применения разработанного метода выделения и очистки низкомолекулярных пептидов из биологического сырья (пчелиного меда, маточного молочка, трутневого расплода) с высоким содержанием низкомолекулярных примесей, осложняющих выделение пептидных регуляторов. Использование данного метода позволяет выделять биологически активные пептиды из этого сырья, а также рекомендовать для внедрения полученные результаты с целью создания на их основе фармакологических препаратов.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Диссертация Клыченкова С. В. состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы по теме диссертации, материалы и методы исследований, результаты собственных исследований, обсуждение результатов, выводы, заключение и список цитируемой литературы, который содержит 408 наименований на русском и английском языках. Работа изложена на 150 листах, иллюстрирована 29 рисунками и 12 таблицами. Автореферат в полной мере отражает структуру диссертации Клыченкова С. В.

Замечания и вопросы по диссертационной работе.

Несмотря на очевидную актуальность темы исследования, теоретическую и практическую значимость полученных результатов необходимо указать на ряд недочетов.

1. В третьей задаче (стр. 6 диссертации) указано, что автор изучал «...способность с применением ряда физиолого-фармакологических тестов». В методах исследования приведены поведенческие тесты. Какие фармакологические тесты подразумевает автор?
2. Вызывает удивление количество использованных для исследования крыс линии Wistar ($n=8$) (стр. 52 диссертации). Вместе с тем, на принципиальной схеме эксперимента (рис. 3 диссертации, стр. 52) указано, что эксперимент проведен на контрольной и экспериментальной группах

животных. В этом случае непонятно, сколько в каждой группе было животных. Также на рисунке 3 (стр. 52 диссертации) указано, что было проведено 2 эксперимента с введением пептидных фракций в разной концентрации. Эти эксперименты проводились на одних и тех же животных? Или это в каждой группе было по 8 крыс. Тогда всего использовалось 72 экспериментальных животных?

3. Из описания методов исследования непонятно, как проводилось введение пептидных фракций животным. Автор указывает, что было хроническое интраназальное введение пептидных фракций, однако далее, например, в п. 4.3 (стр. 90 диссертации) указывается, что было длительное (более 15 суток) интраназальное введение пептидных фракций. Также формулировка «хроническое интраназальное введение» используется и в первом положении, выносимом на защиту. Правильно ли я понял, что введение проводили 1 раз в сутки в течении более 15 дней? Или для введения использовали канюли, и пептиды вводились постоянно в течении более 15 дней? Более 15 дней – это сколько? Из схемы эксперимента следует, что это продолжалось 18 дней (рис. 3 диссертации). Это верно?
4. Также в первом положении есть фраза с неудачной формулировкой: «... в физиолого-фармакологических тестах, уменьшая уровень поведения, ассоциированного с тревожностью тревожности».
5. При описании моделей стресса указывается, что была выбрана модель случайного умеренного стресса, включающего 15 вариантов воздействий. Одинаковая ли комбинация стрессорных воздействий была использована для предъявления всем экспериментальным животным? Одно ли воздействие или несколько из этого списка оказывалось на животных? По описанию методики этого непонятно.
6. В тексте диссертации используется недостаточно обоснованная терминология. Например, «индивидуальные фракции пептидов», «высшая нервная система» (у крыс?), «акклиматизации к новому помещению» (в

помещении была разная влажность, температура и давление?), «разработан *гибкий*, масштабируемый и автоматизируемый способ выделения низкомолекулярных пептидов» и т.д. Также по отношению к выделенным фракциям пептидов используются разные формулировки: «очищенные пептиды», «сумма пептидов», «индивидуальные фракции пептидов», «пептидный спектр», «спектр пептидных соединений», «группы низкомолекулярных пептидов» и т.д., что осложняет понимание того, что конкретно автор использовал в исследовании.

7. Перед воздействием стресс-факторов у животных определяли уровень тревожности? Это важно для понимания того, как эти животные будут переносить стресс-факторы (в зависимости от начального уровня тревожности).
8. В качестве обсуждения также хотелось бы получить уточнение на вопрос: с какой целью было исследовано такое количество структур мозга? Чем это можно обосновать?

Заключение

Таким образом, диссертация Клыченкова Сергея Викторовича «Биологическая активность низкомолекулярных пептидов из продуктов пчеловодства», представленная на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 – Биохимия, является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача изучения биологической активности пептидов массой до 5 кДа, выделенных из маточного молочка, трутневого расплода и пчелиного мёда.

Диссертационная работа полностью соответствует критериям, предъявляемым к диссертациям, установленным разделом 2 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (в действующей редакции), а

ее автор – Клыченков Сергей Викторович – достоин присуждения искомой учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 – Биохимия.

Официальный оппонент:

Профессор кафедры
коррекционной педагогики
Академии психологии и
педагогике федерального
государственного автономного
образовательного учреждения
высшего образования «Южный
федеральный университет»,
профессор, доктор
биологических наук (03.00.04 —
Биохимия)

Менджеричкий Александр Маркович

Адрес места работы: 344065, Россия, Ростовская область, г. Ростов-на-Дону, пер. Днепровский, д. 116, Академия психологии и педагогики федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Южный федеральный университет».

тел. +7(863) 218-40-00 доб.10750, e-mail: info@sfedu.ru

Менджеричкий А. М.

20.05.2024г.



Менджеричкий Александр Маркович
Член Совета
Южного федерального университета
Мирошниченко О.С.