

**Протокол заседания диссертационного совета Д.212.232.10.**  
по защите докторских и кандидатских диссертаций  
на базе Санкт-Петербургского государственного университета  
**№ 34.06-10-1-22 от 21.06.2018**

Состав диссертационного совета утвержден в количестве 33 человек.  
Присутствовали на заседании 24 из состава диссертационного совета.

<b>Председатель</b>	д.б.н., профессор, академик РАН Ноздрачёв Александр Данилович
<b>Заместитель председателя</b>	д.б.н. Марков Александр Георгиевич
<b>Ученый секретарь совета</b>	д.б.н. Алексеев Николай Петрович

**Члены совета:**

д.б.н. Арутюнян Александр Варганович  
д. ф.-м.н. Войтылов Владислав Викторович  
д.б.н. Вольнова Анна Борисовна  
д.м.н. Дворецкий Джан Петрович  
д.б.н. Ещенко Наталья Дмитриевна  
д.б.н. Кокряков Владимир Николаевич  
д.б.н. Комиссарчик Ян Юдович  
д.б.н. Краснощекова Елена Ивановна  
д.б.н. Кривой Игорь Ильич  
д.б.н. Крутецкая Зоя Иринарховна  
д.б.н. Крылов Борис Владимирович  
д.б.н. Кулёва Надежда Владимировна  
д.б.н. Любашина Ольга Анатольевна  
д.б.н. Медведев Святослав Всеволодович  
д.б.н. Негуляев Юрий Алексеевич  
д.б.н. Ордян Наталья Эдуардовна  
д.б.н. Падкина Марина Владимировна  
д.б.н. Самбук Елена Викторовна  
д. ф.-м.н. Трусов Анатолий Анатольевич  
д.б.н. Черенкова Людмила Викторовна  
д.м.н. Шабанов Петр Дмитриевич

**Повестка дня:**

Защита диссертации, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия, **Шмурака Владимира Игоревича** «Сравнительный анализ связывающей и эстеразной активности сывороточного альбумина человека, быка и крысы»

**Официальные оппоненты по диссертации:**

**1. Орехов Александр Николаевич**, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией ангиопатологии, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки « Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

**2. Стефанов Василий Евгеньевич**, кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник, заведующий кафедрой биохимии биологического факультета

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет».

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины» ФАНО России, г. Санкт-Петербург.

**Слушали:**

Защиту диссертации *Шмурака Владимира Игоревича «Сравнительный анализ связывающей и эстеразной активности сывороточного альбумина человека, быка и крысы»*, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

На основании защиты диссертации, представленной *Шмураком Владимиром Игоревичем* на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия, состоявшейся 21 июня 2018, диссертационный совет Д.212.232.10 по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук (на базе Санкт-Петербургского государственного университета) пришел к выводу о том, что диссертационное исследование *Шмурака Владимира Игоревича «Сравнительный анализ связывающей и эстеразной активности сывороточного альбумина человека, быка и крысы»*, представляет собой научно-квалификационную работу и является актуальным научным исследованием. Работа отвечает всем критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней, а ее автор, *Шмурак Владимир Игоревич*, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

При проведении тайного голосования диссертационный совет Д.212.232.10 в количестве 24 человек (из них 6 докторов наук по специальности 03.01.04 – биохимия), участвовавших в заседании, из 33 человек, входящих в состав совета, проголосовали:

«за» - 24

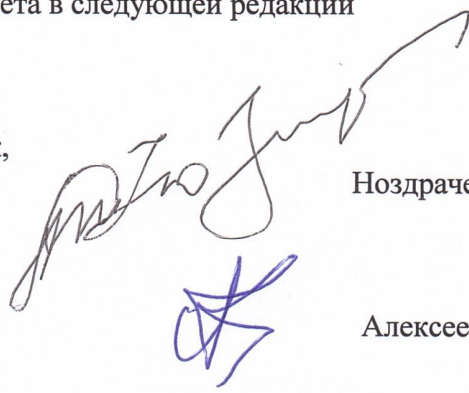
«против» - нет,

недействительных бюллетеней – нет.

Диссертационный совет принял решение присудить *Шмураку Владимиру Игоревичу* ученую степень кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия, и принять заключение диссертационного совета в следующей редакции

Председатель  
диссертационного совета Д.212.232.10  
академик РАН, доктор биологических наук,  
профессор

Ученый секретарь  
диссертационного совета Д.212.232.10  
доктор биологических наук, профессор



Ноздрачев А. Д.

Алексеев Н.П.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д.212.232.10

### НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ» (ПРАВИТЕЛЬСТВО РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ) ПО ЗАЩИТЕ ДИССЕРТАЦИЙ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

Аттестационное дело № \_\_\_\_\_

Решение диссертационного совета от 21.06.2018 № 34.06-10-1-22

**о присуждении Шмураку Владимиру Игоревичу,  
гражданину Российской Федерации,  
ученой степени кандидата биологических наук**

Диссертация **Шмурака Владимира Игоревича** «Сравнительный анализ связывающей и эстеразной активности сывороточного альбумина человека, быка и крысы» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04. - биохимия принята к защите 12.04.2018, протокол №34.06-10-1-14, на заседании Диссертационного совета Д.212.232.10, созданном на базе ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет» Правительства РФ (199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д.7/9). Совет утвержден приказом Минобрнауки России № 75-нк от 15.02.2013.

Соискатель **Шмурак Владимир Игоревич**, 1985 года рождения, в 2007 году окончил бакалавриат факультета Медицинской физики и биоинженерии ГОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный политехнический университет» по специальности техническая физика, диплом № ВБА 0416451,

в 2009 году окончил магистратуру факультета Медицинской физики и биоинженерии ГОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный политехнический университет» по специальности техническая физика, диплом № ВМА 008471.

Проходил обучение в очной аспирантуре ГОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный политехнический университет» с 01.10.2009 по 01.10.2012. Справка №12/392-3 о сдаче кандидатских экзаменов (иностранный язык (английский) и экзамен по специальности 03.01.02 – биофизика с оценкой «хорошо», история и философия науки (биологические науки) с оценкой «отлично») выдана 03.06.2016.

Проходил обучение в аспирантуре ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН в качестве экстерна. Справка №15 об обучении (прикреплении) и о периоде обучения (сдан экзамен по специальности 03.01.04 – биохимия с оценкой «хорошо») выдана 17.10.2017.

Диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия на тему «Сравнительный анализ связывающей и эстеразной активности сывороточного альбумина человека, быка и крысы» защитил в 2018 году в Диссертационном совете Д.212.232.10, созданном на базе ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет» Правительства РФ.

Соискатель работает в должности научного сотрудника лаборатории аналитической токсикологии Федерального государственного унитарного предприятия «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» Федерального медико-биологического агентства (ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России), Ленинградская область.

Диссертация выполнена в ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России.

## **Научный руководитель:**

доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России, **Гончаров Николай Васильевич**

## **Официальные оппоненты:**

1. **Орехов Александр Николаевич**, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией ангиопатологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей патологии и патофизиологии Российской академии наук.

В отзыве Орехова А.Н. содержатся следующие вопросы:

1. Вывод о консерватизме сайта Садлоу11 по отношению к сайту Садлоу 1 всех исследованных видов альбумина достаточно обоснован и понятен, но что имел в виду автор, говоря о консерватизме бычьего альбумина по отношению к альбумину крысы и человека?
2. Можно ли по выявленным свойствам альбумина трех видов животных предсказать, какой из них будет более чувствителен к отравлению фосфорорганическими соединениями?

2. **Стефанов Василий Евгеньевич**, кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник, заведующий кафедрой биохимии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет».

В отзыве Стефанова В.Е. содержатся следующие вопросы:

1. Продуктивная сорбция зомана в активном центре возможна только после депротонирования каталитического тирозина. Хотелось бы узнать точку зрения диссертанта на то, за счет чего может происходить депротонирование указанного тирозина? Как известно рКа свободного тирозина составляет примерно 10. В связи с этим возникает вопрос о том, имеются ли данные о влиянии связывания альбумином субстрата на величину рКа тирозина, и если таковые имеются, то сколь значительно это влияние?
2. В диссертационной работе эксперименты *in vitro* проведены с тремя видами альбумина – с человеческим, бычьим и крысиным, в то время как расчеты *in silico* – только с человеческим и бычьим. Естественно возникает вопрос, почему не были сделаны расчеты *in silico* с крысиным альбумином? Можно предположить, что препятствием в этом случае стало отсутствие данных рентгеноструктурного анализа, в связи с чем автор прибег к построению трехмерной структуры с помощью биоинформатики. Хотелось бы услышать о наиболее существенных деталях используемого им подхода и о дальнейших планах на завершение очень интересного расчетного эксперимента.
3. В работе по данным молекулярного моделирования сродство сайта Садлоу-1 к п-нитрофенилацетату выше, чем сродство сайта Садлоу-2, в то время как по данным экспериментов *in vitro* получается наоборот. Используя предложенную Вами очень оригинальную кинетическую схему, не могли бы вы объяснить, с чем и в какой степени это может быть связано?

Официальные оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

## **Ведущая организация:**

**Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины» ФАНО России, г. Санкт-Петербург**, в своем положительном отзыве на диссертацию, составленную **Соколовым А.В.**, доктором биологических наук, заведующим лабораторией биохимической генетики отдела молекулярной генетики и **Шамовой О.В.**, доктором биологических наук, доцентом, заместителем директора по научной работе ФГБНУ "Институт экспериментальной медицины", подписанном **Хабаровой О.В.**, начальником отдела управления персоналом и делопроизводства, и утвержденном доктором биологических наук, профессором **А.В.Дмитриевым**, директором ФГБНУ "Институт экспериментальной медицины" указала, что:

- диссертационная работа Шмурака Владимира Игоревича является оригинальным завершённым научным трудом, соответствующим выбранной специальности, в которой на основании выполненных автором исследований содержится решение актуальных для современной фармакологии и токсикологии задач. Разработанные подходы к оценке взаимодействия лигандов с альбумином с учетом эстеразной активности белка при оценке фармако- и токсикокинетики будут способствовать разработке рациональной фармакотерапии, оптимизации процесса создания новых лекарственных средств.

- по актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований, теоретической и практической значимости результатов диссертация соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013, в действующей редакции от 02.08.2016, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а Шмурак Владимир Игоревич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

В отзыве ведущей организации содержатся следующие вопросы:

1. Как соотносится эстеразная активность альбумина с активностью других эстераз, например холинэстераз?
2. Насколько значима эстеразная активность альбумина для фармако- и токсикокинетики? Для каких соединений это будет иметь наиболее существенное значение?
3. Результаты, полученные в диссертации, свидетельствуют, что сывороточный альбумин крысы наиболее близок к сывороточному альбумину человека. Между тем, в экспериментальных исследованиях часто используется сывороточный альбумин быка. Можно полагать, что эта практика будет продолжаться. Какие рекомендации Вы можете дать по экстраполяции на человека результатов, полученных при оценке связывающей способности альбумина в опытах с сывороточным альбумином быка?

Соискатель имеет 15 опубликованных работ по теме диссертации, в том числе 10 статей, опубликованных в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, 5 тезисов в материалах всероссийских и международных конференций.

Наиболее значительные работы по теме диссертации:

1. **Шмурак В. И.** Определение эстеразной активности альбумина в токсикологическом эксперименте. Токсикологический Вестник. - 2011. - №2 - с.46-49.
2. Белинская Д.А., **Шмурак В.И.**, Прокофьева Д.С., Гончаров Н.В. Сывороточный альбумин: поиск новых сайтов взаимодействия с фосфорорганическими соединениями на примере зомана. Биоорганическая химия. 2014. Т. 40. № 5. С. 541.
3. Белинская Д.А., **Шмурак В.И.**, Таборская К.И., Авдонин П.П., Авдонин П.В., Гончаров Н.В. Сравнительный анализ *in silico* связывания параоксона сывороточным альбумином человека и быка. Журнал Эволюционной Биохимии и Физиологии. 2017, Т.53, №3, С.170-177.
4. Гончаров Н.В., Терпиловский М.А., **Шмурак В.И.**, Белинская Д.А., Авдонин П.В. Сравнительный анализ эстеразной и параоксоназной активности различных видов альбумина. Журнал Эволюционной Биохимии и Физиологии. 2017, Т.53, №4, С.241-250.
5. Goncharov N.V., Belinskaia D.A., **Shmurak V.I.**, Terpilowski M.A., Jenkins R.O., Avdonin P.V. Serum Albumin Binding and Esterase Activity: Mechanistic Interactions with Organophosphates. *Molecules*. 2017, 22(7), pii: E1201.

На автореферат диссертации поступило 5 отзывов. Все отзывы являются положительными. Отзывы прислали:

1. **Кашуро Вадим Анатольевич**, доктор медицинских наук, заведующий лабораторией «Биохимической фармакологии и токсикологии» в ФГБУН «Институт токсикологии» ФМБА России. Отзыв положительный, содержит один вопрос:
  - 1) Почему при указании длины молекулы альбумина приведена ссылка на статью о базе данных (БД) UniProt, хотя при этом данные из БД в работе не использованы, а количественный и аминокислотный состав альбумина в UniProt отличается от приведенного как в цитируемых статьях, так и в работе диссертанта?
2. **Иванов Андрей Михайлович**, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий кафедрой клинической биохимии и лабораторной диагностики ФГБ ВОУ ВО Военно-медицинская академия, главный специалист Минобороны РФ по клинической лабораторной диагностике. Отзыв положительный, вопросов и замечаний не содержит.
3. **Кривокрытов В.П.**, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, начальник лаборатории ГосНИИОХТ, Москва. Отзыв положительный, содержит замечания:
  - 1) Из текста автореферата неясно, в чем новизна первого положения, выносимого автором на защиту
  - 2) Непонятно, что нового привнес автор в математическое описание фермент-субстратных взаимодействий.
4. **Маевский Игорь Ильич**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией энергетики биологических систем, Институт теоретической и экспериментальной биофизики, Пущино, Московская область. Отзыв положительный, содержит замечание:

Следует отметить слабое разрешение некоторых рисунков, из-за чего сложно разобраться в их содержании. Замечание не ставит под сомнение высокий научно-методический уровень выполненной работы.
5. **Новоселова Елена Григорьевна**, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, Института биофизики клетки РАН. Отзыв положительный, существенных замечаний нет, вопросов нет.

В отзывах на автореферат отмечается актуальность темы исследования, теоретическая и практическая значимость полученных результатов. Отмечается комплексный характер исследования, сочетающий результаты биохимических методов и современные методы математического моделирования молекулярных процессов. Кроме выраженной фундаментальной ценности работа имеет и практическое значение: ее результаты необходимо учитывать и использовать при видовом переносе данных, полученных в фармакологических и токсикологических исследованиях. Результаты работы можно применять при разработке курса лекций по разделам дисциплин: биофизика, биохимия, фармакология и токсикология. Все отзывы содержат вывод о соответствии диссертационного исследования требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013, в действующей редакции от 02.08.2016, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, и о том, что диссертант заслуживает присвоения степени кандидата биологических наук.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обоснован высокой квалификацией выбранных специалистов и научным авторитетом в исследовательском сообществе. Оппоненты являются работниками разных организаций, в которых осуществляется их трудовая деятельность. Ведущая организация является известным научным центром России, а ее сотрудники имеют публикации, связанные с проблематикой диссертации.

**Диссертационный совет отмечает, что в результате выполненных соискателем исследований:**

- **Предложена** оригинальная схема, описывающая каталитическое и стехиометрическое взаимодействие альбумина с субстратами эстераз, а также математическая модель, подтверждающая данную схему.
- **Установлено**, что функциональные характеристики альбумина человека и альбумина крысы отличаются между собой в меньшей степени по сравнению с функциональными характеристиками бычьего альбумина. Более консервативными являются бычий альбумин по отношению к альбумину человека и альбумина крысы, а также сайт Садлоу II по отношению к сайту Садлоу I всех исследованных видов альбумина.
- **Установлено**, что эффективность фосфорилирования сайта Садлоу II всех трех видов альбумина при взаимодействии с параоксоном выше эффективности ацетилирования этого сайта при взаимодействии с *n*-нитрофенилацетатом.
- **Определена** аффинность зомана к двум сайтам связывания альбумина быка методом остаточного ингибирования ацетилхолинэстеразы.
- **Определены** сайты и характер взаимодействия альбумина с субстратами эстераз и фосфорорганическими соединениями, с использованием биохимических методов *in vitro* и методов молекулярного моделирования *in silico*.

**Теоретическая значимость работы** состоит в том, что предложена схема и математическая модель для описания эстеразной активности альбумина, впервые проведен биохимический анализ функционирования двух сайтов альбумина в сочетании с анализом *in silico*. Результаты важны для развития методологии доклинических исследований холинэргических фармакологических препаратов. Сочетание методов

теоретической и экспериментальной оценки (псевдо)эстеразной активности альбумина позволит найти способы направленного воздействия на определенные сайты или молекулу альбумина в целом лигандами природного и искусственного происхождения, повышая эффективность антидотной терапии, а также терапии различных заболеваний.

**Применительно к проблематике диссертации результативно использован** комплекс биохимических методов, включающий спектрофотометрическое определение эстеразной активности альбумина по отношению к основному субстрату эстераз – *n*-нитрофенилацетату, и по отношению к параоксону, а также по отношению к зоману с использованием принципа остаточного ингибирования ацетилхолинэстеразы; кроме того, использован комплекс методов молекулярного моделирования, включающий докинг лигандов в центрах связывания альбуминов с помощью программного пакета Autodock 4.0, и метод молекулярной динамики для оценки стабильности полученных комплексов лиганд-белок с помощью программного пакета GROMACS.

**Практическая значимость** работы обоснована тем, что установленные функциональные характеристики взаимодействия с *n*-нитрофенилацетатом и параоксоном сайтов Садлоу I и Садлоу II альбумина крысы и человека ближе между собой и существенно отличаются от характеристик бычьего альбумина, что позволит точнее оценивать экспериментальные данные с учетом видовой специфики, что в свою очередь важно в свете задач трансляционной медицины.

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

- установлено сходство функциональных характеристик сайтов Садлоу I и Садлоу II альбумина крысы и человека и их отличие от функциональных характеристик бычьего альбумина с *n*-нитрофенилацетатом и параоксоном в качестве субстратов;
- определены кинетические и равновесные характеристики истинно эстеразной активности сайта Садлоу I альбумина крысы, человека и быка, которые свидетельствуют о необходимости использования альбумина крысы в экспериментальных моделях *in vitro*, а не более дешевый и доступный бычий альбумин;
- предложенная оригинальная схема для описания эстеразной активности альбумина и математическая модель, подтверждающая данную схему, позволят усовершенствовать существующие модели токсикокинетики фосфорорганических соединений в организме млекопитающих;
- проведен биохимический анализ функционирования двух сайтов альбумина в сочетании с анализом *in silico*; пример такого сочетанного анализа является важным вкладом в развитие методологии доклинических исследований фармпрепаратов.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:**

- результаты экспериментов получены с применением методов, адекватных задачам исследования, и подвергнуты корректной статистической обработке;
- данные, представленные в диссертации, являются достоверными и воспроизводимыми;
- достоверность полученных данных подтверждается обоснованным выбором экспериментальных методик, согласованностью теоретических предпосылок



исследования и полученных результатов, достаточным количеством повторений экспериментов и корректностью проведённого статистического анализа.

**Личный вклад соискателя** состоит в личном участии во всех экспериментах, представленных в данной работе, проведении статистической обработки полученных результатов, участии в написании тезисов и статей, представлении результатов на конференциях. Экспериментальная часть работы выполнена на базе ФГУП «НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России. Все полученные результаты исследования представлены на всероссийских и международных конференциях, опубликованы в периодических научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ; кроме того, в настоящее время по ним готовятся новые совместные публикации.

Диссертация не содержит некорректных заимствований.

На заседании 21 июня 2018 Диссертационный совет, заслушав и обсудив диссертацию *Шмурака Владимира Игоревича «Сравнительный анализ связывающей и эстеразной активности сывороточного альбумина человека, быка и крысы»*, пришел к выводу о том, что представленная работа является оригинальным, законченным (в рамках поставленных задач) научно-квалификационным исследованием, полностью отвечающим требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук (п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013, в действующей редакции от 02.08.2016).

Диссертационный совет принял решение присудить *Шмураку Владимиру Игоревичу* ученой степень кандидата биологических наук по специальности *03.01.04 – биохимия*.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 24 человека (из них 6 докторов наук по специальности *03.01.04 – биохимия*), участвовавших в заседании, из 33 человек, входящих в состав Совета, проголосовал:

«за» - 24,

«против» - нет,

недействительных бюллетеней – нет.

Председатель

диссертационного совета Д.212.232.10  
доктор биологических наук,  
профессор, академик РАН



Ноздрачев А.Д.

Ученый секретарь

диссертационного совета Д.212.232.10  
доктор биологических наук, профессор

Алексеев Н.П.