



## National Institutes of Health

29 ноября 2015 г.

## ОТЗЫВ

На автореферат диссертационной работы Чулкова Евгения Георгиевича **“Механизмы влияния флавоноидов на каналобразующую активность нистатина”**, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – “Молекулярная биология”

Диссертационная работа Е. Г. Чулкова – оформленное научное исследование, посвященное изучению влияния ряда мембраноактивных полифенолов – флавоноидов, на свойства ионных каналов, образуемых полиеновым антибиотиком нистатином, в липидных мембранах. Работа представляет несомненный интерес как с точки зрения фундаментального исследования физико-химических свойств и фазового равновесия липидных мембран, так и с практической, в поиске мембранотропных модуляторов токсичности нистатина и потенциального применения данных соединений в клинической практике. Автор успешно и оригинально использует ряд взаимодополняющих экспериментальных методов для решения поставленных задач исследования: измерение токов при фиксации потенциала на искусственных бислойных мембранах, сканирующая микрокалориметрия и конфокальная микроскопия липосом различного липидного состава в присутствии ряда флавоноидов и каналобразующего антибиотика. Все экспериментальные измерения и анализ результатов выполнены автором лично.

Автором показаны различные изменения нистатинового ионного тока, индуцированного односторонней добавкой каналоформера, в присутствии флавоноидов, введенных с разных сторон мембраны. Исследование липидных структур в липосомах обнаруживает значительное влияние специфических флавоноидов на разделение и смешивание мембранных фаз в смесях липидов, показана тенденция флавоноидов к разжижению гелевой липидной фазы  $S_0$  и образованию небислойных гексагонально упакованных липидных веретен. В заключении работы сделан вывод о преимущественном влиянии флавоноидов на эластичные свойства бислоя, и индуцировании нистатинового каналобразования за счет снижения энергетических затрат на формирование асимметричного липидного устья ионного канала.

Результаты работы и представленные выводы весьма интересны, и, несомненно, вносят значительный вклад в понимание природы модуляции активности полиеновых антибиотиков и их клинического применения, и в общее представление о фазовых равновесиях в многокомпонентных липидных бислоях. Считаю, что работа выполнена на высоком методическом и концептуальном уровне, результаты диссертационного

исследования полно отражены в 3 статьях, опубликованных в иностранных журналах, и 8 тезисах конференций.

Некоторые вопросы возникли при чтении автореферата, хотел бы адресовать их автору. Вопросы, сразу оговорюсь, направлены на дальнейшую разработку заявленной проблемы, и не влияют на общее положительное впечатление от работы. Насколько правомерным является заключение автора о росте числа нистатиновых асимметричных каналов при введении флавоноидов? Альтернативной моделью представляется образование нового типа пор, или иного рода мембранных ионопроводящих дефектов, при специфическом взаимодействии нистатина, флавоноидов и/или липидов в исследуемых бислоях. Проводилось ли в этой связи исследование дозо-зависимости флавоноидов на интенсивность нистатинового каналообразования? Насколько выводы автора о гомогенизирующем эффекте флавоноидов на фазо-разделенные мембранные смеси и увеличение каналообразования согласуется с опубликованными данными о специфичности формирования нистатиновых каналов на периферии липидных рафтов, *Lo* – доменов (например, Helrich et al., Biophys. J. 91 (3), 2006, 1116-1127)? Было ли проведено исследование усиления тенденции к образованию гексагональной липидной фазы (или изменения внутренней кривизны отдельных монослоев мембран) при помощи каких-либо других липид-чувствительных молекул, например, грамицидина А? Все эти вопросы, повторюсь, ни в коей мере не снижают научной значимости и оценки работы, и носят только рекомендательный характер в отношении дальнейших исследований.

В заключении отмечаю, что работа Е. Г. Чулкова “Механизмы влияния флавоноидов на каналобразующую активность нистатина” по актуальности выбранной темы, методическому уровню, новизне и достоверности полученных результатов, их теоретической и практической значимости является законченной квалификационной работой и соответствует требованиям п. 9 “Положения о порядке присуждения ученых степеней”, утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор, Чулков Евгений Георгиевич, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03. — “Молекулярная биология”.

Научный сотрудник Секции Молекулярного Транспорта  
Национального Института Детского Здравоохранения и Развития Человека США  
кандидат биологических наук  
по специальности 03.00.25. – гистология, цитология, клеточная биология

(Ф. А. Гурьев)

9000 Роквиль-пайк, к. 9, комн. 1E-106  
г. Бетезда, штат Мериленд, 20892, США  
тел. +1-301-451-22-75

эл. почта: [gurnevp@mail.nih.gov](mailto:gurnevp@mail.nih.gov)

сайт организации: <https://science.nichd.nih.gov/confluence/display/smt/Home>