

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

B.O.

Директор Інституту біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України
академік НАН та АМН України,
доктор біологічних наук, професор
С.В. Комісаренко
протокол № 4 від 26.02.2025 р.



ВИСНОВОК

Про наукову новизну, теоретичне та практичне
значення результатів дисертації
Євгенія КУЧЕРЯВОГО

**«Дослідження структури та функцій α C-регіонів та В β N-доменів
фібрин(оген)у за допомогою молекулярних ефекторів»**

поданої на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії в галузі
знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія»

1. Актуальність теми дисертаційної роботи.

Процеси полімеризації фібрину та агрегації тромбоцитів лежать у основі формування фібриново-тромбоцитарного згустку – тромбу. Тромбоутворення, що здійснюється у відповідь на ушкодження судин, запобігає втраті крові та стимулює регенерацію. Водночас, патологічне формування тромбів всередині судини становить загрозу для життя, викликаючи ішемізацію тканин та органів.

Тому дослідження молекулярних механізмів, які лежать в основі полімеризації фібрину та агрегації тромбоцитів, дає розуміння, яким чином можна регулювати процеси тромбоутворення – запобігати внутрішньосудинному, та стимулювати екстрасудинне формування тромбу.

Моноклональні антитіла, специфічні до різних сайтів молекули фібрин(оген)у, пептиди, що імітують окремі фрагменти молекули, а також селективні протеїнази, здатні відщеплювати її окремі субдомени, є важливими інструментами вивчення структури та функцій фібриногену та фібрину в процесі тромбоутворення.

Важливо, що ефекти антитіл пов'язані з безпосереднім блокуванням функціонально активних сайтів молекули. У цьому випадку міжмолекулярна взаємодія блокується стерично, оскільки досліджуваний сайт уже є заблокований специфічним антитілом, афінність якого співмірна афінності природного ліганда.

На відміну від антитіл, які блокують досліджуваний фрагмент молекули, пептиди імітують структуру сайту, а отже блокують комплементарну йому ділянку

взаємодії. Тобто, дія пептиду на досліджуваний сайт не безпосередня, а конкурентна – сайт зберігає свою структуру, доступний до зв'язування, але його ліганд заблокований.

Протеїнази дозволяють отримувати частково гідролізовані форми молекули з визначеною структурою, позбавлені чітко визначених фрагментів, тоді як інші фрагменти молекули лишаються нативними. Селективне відщеплення від молекули протеїну певного фрагменту дає змогу оцінити його функціональну роль.

2. Мета та завдання дисертації:

Метою роботи стало вивчення процесів полімеризації фібрину та агрегації тромбоцитів за допомогою молекулярних ефекторів, які протеолітично відщеплюють, стерично блокують або конкурентно інгібують активні сайти молекули.

Відповідно до мети було поставлено такі завдання.

1. Дослідити участь В β N-доменів фібрин(оген)у у процесах побудови протофібрил, формування тривимірної сітки фібрину та агрегації тромбоцитів.
2. Вивчити роль внутрішньомолекулярних взаємодій В β N-доменів та α C-регіонів у полімеризації фібринів.
3. Дослідити залучення N-кінцевих та C-кінцевих субдоменів α C-регіонів фібрин(оген)у до формування фібриново-тромбоцитарного тромбу.

3. Наукова новизна одержаних результатів. Тривалі та кропітки дослідження, які тривали у Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна понад пів століття, дозволили накопичити велику кількість наукової інформації щодо молекулярних перетворень молекули фібрин(оген)у в процесі полімеризації. Крім того, було сформовано інструментарій для проведення досліджень. Бібліотека моноклональних антитіл, специфічних до окремих сайтів молекули, набір високоселективних протеїназ, колекція пептидів-міметиків – усі ці набутки потребували систематизації та застосування у режимі паралельного експерименту.

Таке їх застосування дозволило не лише порівняти функціональну важливість окремих сайти молекули фібрин(оген)у, а й порівняти наслідки інгібування одного й того ж сайту ефекторами різної природи. Саме такий підхід і дозволив отримати нову наукову інформацію про роль комплексу В β N-доменів та α C-регіонів у формуванні фібриново-тромбоцитарного тромбу.

4. Теоретичне значення одержаних результатів. У роботі вперше запропоновано дослідження структури та функцій комплексу α C-регіону та

В β N-домену з використанням молекулярних ефекторів, які відрізняються за принципом дії. Пряме порівняння ефектів протеолітичного відщеплення, прямого блокування антитілами або ж конкуренції з пептидами за сайти взаємодій, дозволило зробити висновки щодо особливостей функціонування активних сайтів молекули, розміщених у межах α C-регіону та В β N-домену.

5. **Практичне значення одержаних результатів.** Дослідження молекулярних механізмів побудови тривимірної сітки фібрину та формування фібриново-тромбоцитарного тромбу є необхідним для розуміння природи патологічного внутрішньосудинного тромбоутворення та для пошуків способів запобігання цьому патологічному процесу. Проведені дослідження дозволяють розглядати N- кінець В β -ланцюга молекули фібриногену як мішень дії антитромботичних препаратів нового покоління, а моноклональне антитіло та специфічну протеїназу, які діють на цей фрагмент молекули – як основу для їх розробки.
6. **Особистий внесок здобувача.** Тему, мету та завдання роботи було сформульовано дисертантом спільно з науковим керівником зав. відділу В.О. Чернишенком. Отримання протеїназ та частково гідролізованих форм фібриногену проведено спільно з н.с. Є.М. Стогнієм. Напрацювання та перевірку активності моноклональних антитіл здійснено спільно з с.н.с. Д.С. Корольовою. Турбідиметричні, електронно-мікроскопічні дослідження, а також агрегатометрію виконано дисертантом самотужки. Аналіз результатів досліджень та їх узагальнення здійснено спільно з проф. Т.М. Платоною.
7. **Публікації результатів роботи, їх обговорення.** За результатами проведеної роботи опубліковано 7 статей у фахових журналах, у тому числі по одній статті Q1- та Q3-квartilів у базі даних SCOPUS.
 1. Platonova T.M., Hrabovskyi O.O., Chernyshenko V.O., Stohnii Y.M., **Kucheryavii Y.P.**, Korolova D.S., Komisarenko S.V. (2025). Alternative role of B:b knob-hole interactions in the fibrin assembly. *Biochemistry* 2025, 64, 4, 791-800. <https://10.1021/acs.biochem.4c00695> (Q1).
Кучерявий Є.П. – електронна мікроскопія, написання статті, редагування;
 2. **Kucheriavii, Y.P.**, Panas, I.D. (2023). Transmission electron microscopy for the direct analysis of fibrin clot structure. *Biotechnologia Acta*, 16(2), 30-31. <https://10.15407/biotech16.02.030>
Кучерявий Є.П. – електронна мікроскопія, написання статті, редагування.
 3. Stohnii, Y.M., Yatsenko, T.A., Nikulina, V.V., **Kucheriavii, Y.P.**, Hrabovskyi,

O.O., Slominskyi, O.Y., Savchenko, K.S., Garmanchuk, L.V., Varbanets, L.D., Tykhomyrov, A.O., & Chernyshenko, V.O. (2023). Functional properties of individual sub-domains of the fibrin(ogen) α C-domains. *BBA advances*, 1867(3), 100072. <https://doi.org/10.1016/j.bbadv.2023.100072> (Q3).

Кучерявий Є.П. – електронна мікроскопія, турбідиметрія, агрегація тромбоцитів, редагування та написання статті;

4. Zhelavskiy, M.A., Platonov, O.M, **Kucheryavyy, Y.P.**, Stohnii, Y.M. (2023). Aprobation of platelet aggregation inhibitor from Echis multisquamatis snake venom in vitro, in vivo and ex vivo. *Biotechnologia Acta*, 16(5). <https://doi.org/10.15407/biotech16.05>

Кучерявий Є.П. – дослідни на тваринах, редагування та написання статті

5. **Kucheriavyy Y.**, Hrabovskiy O., Rebriev A.V., Stohnii Y. Limited proteolysis of fibrinogen α C-region reveals its structure. *Biotechnologia Acta* T. 15, No. 2, 2022. P. 60-61. <https://doi.org/10.15407/biotech15.02.060>

Кучерявий Є.П. – електронна мікроскопія, турбідиметрія, редагування та написання статті;

6. Iskandarov E., Zinenko O., Tupikov A., Pitishkina A., Platonov O., Gryshchuk V., **Kucheriavyy Y.**, Stohnii Y. (2022) Action of venom of Vipera snake of Ukraine on blood coagulation in vitro. *Biotechnologia Acta*. 15(2):56-57. <https://doi.org/10.15407/biotech15.02.056>

Кучерявий Є. – агрегація тромбоцитів, редагування та написання статті;

7. Iskandarov E., Gryshchuk V., Platonov O., **Kucheriavyy Y.**, Slominskyi O., Stohnii Y., Vartanov V., Chernyshenko V. Fractionation of Vipera berus berus snake venom and detection of bioactive compounds targeted to blood coagulation system. *Southeastern European Medical Journal*. 6 (2022) 20-31. <https://doi.org/10.26332/seemedj.v6i2.256>

Кучерявий Є. – агрегація тромбоцитів, аналіз даних

8. Апробація результатів дисертації.

1. Stohnii Y., Baidakova K., Platonov O., **Kucheryavyy Y.**, Iskandarov E., Zinenko O., Gryshchuk V. Fibrinogenases from the animal venoms in the study of fibrinogen structure and fuctions / 26th Congress of the International Society for Fibrinolysis and Proteolysis, October 11-14, 2023, Budapest, Hungary. Plasminogen activation and fibrinolysis workshop of the Hungarian society of thrombosis and haemostasis.

2. **Kucheriavyu Y., Didkivskyi V., Selikhova A., Tokmakova Y., Cherenok S., Zhminko P., Chernyshenko V.** Antithrombotic action of sodium salt of 5,11,17,23-bis(dihydroxyphosphoryl)methylcalix[4]arene in vivo. RECOOP 16th Bridges in Life Sciences Video Conference. 16 April 2021. P. 53.

9. Інформація щодо проведення біоетичної експертизи дисертаційних досліджень. Комісія з біологічної безпеки та біоетики Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України розглянула матеріали дисертаційної роботи аспіранта відділу структури та функції білка Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України Кучерявого Євгенія Петровича «Дослідження структури та функцій α C-регіонів та В β N-доменів фібрин(оген)у за допомогою молекулярних ефекторів», щодо відповідності вимогам норм біологічної безпеки та біоетики його роботи, поданої на здобуття наукового ступеня доктора філософії.

За висновками Комісії було прийнято рішення, що дисертаційна робота була проведена з дотриманням вимог норм біоетики, біологічної безпеки згідно Гельсінської декларації (1975) з доповненнями від 2000 та 2008 років для роботи з використанням людського матеріалу.

Рішення затверджено на засіданні Комісії з біологічної безпеки та біоетики від 23 квітня 2025 року, протокол № 4.

Таким чином, за результатами публічної презентації Євгенієм КУЧЕРЯВИМ наукових результатів дисертації «Дослідження структури та функцій α C-регіонів та В β N-доменів фібрин(оген)у за допомогою молекулярних ефекторів» та її обговорення на розширеному засіданні професорсько-викладацького складу Випускової кафедри ЗВО Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України та наукового семінару «Актуальні проблеми сучасної біохімії» Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна Національної академії наук України ухвалили:

1. Вважати, що дисертація Євгенія КУЧЕРЯВОГО на тему «Дослідження структури та функцій α C-регіонів та В β N-доменів фібрин(оген)у за допомогою молекулярних ефекторів» є завершеною науковою працею та відповідає спеціальності 091 «Біологія».
2. Вважати, що дисертація Євгенія КУЧЕРЯВОГО відповідає «Порядку підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії та доктора наук у закладах вищої освіти (наукових установах)», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів

України № 261 від 23 березня 2016 року, та «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» (пп. 6, 7, 8), затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України №44 від 12 січня 2022 р.

3. Рекомендувати дисертацію Євгенія КУЧЕРЯВОГО на тему «Дослідження структури та функцій α C-регіонів та B β N-доменів фібрин(оген)у за допомогою молекулярних ефекторів» до захисту на засіданні разової спеціалізованої вченої ради за спеціальністю 091 «Біологія».

06.06.2025 р.

Головуючий, заступник директора з наукової роботи

Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

академік НАН України,

д.б.н., професор



Сергій КОСТЕРІН

Завідувач Випускової кафедри «Біологія»

Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна

НАН України

д.б.н., с.н.с.

Лідія БАБІЧ

Секретар засідання, старший науковий співробітник

відділу структури та функції білка

Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна

НАН України

к.б.н.

Юлія ВІННИЧУК