

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертацію Шаропова Біжанаа Рашидовича
“Експресія та функція капсаїцинового рецептора TRPV1 у сечовому міхурі
шура в нормі та при патології”
представлену на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за
спеціальністю 03.00.02 – біофізика

Дисертаційна робота присвячена дослідженню уротелію, гладеньких м'язів детрузора, та аферентних нервових закінчень сечового міхура з метою виявлення в них функціонального іонного каналу TRPV1, встановлення його значення у цих структурах та з'ясування змін його функцій, які відбуваються при цукровому діабеті.

Проблеми, які вирішуються у цій роботі, є актуальними для біофізики, біохімії, молекулярної біології та інших галузей природничих наук, як токсикологія і медицина через дуже широкий спектр патологій, які можуть бути пов'язані з дисфункціями іонних каналів TRPV1 у різних гістологічних структурах сечового міхура та новітніми чинниками впливу на їхню активацію або пригнічення а також недостатню з'ясованість механізмів дії як самих каналів так і чинників впливу на них. Результати дослідження також можуть бути використані для науково-промислового виробництва анти-діабетичних препаратів, препаратів для зменшення атонії сечового міхура внаслідок якої виникає мимовільне сечовиділення, післяродової атонії матки, підвищення тонусу гладенької мускулатури кров'яних судин та зменшення кровотеч, допомагати при передчасних або утруднених пологах шляхом збільшення скоротливої спроможності матки, інших захворювань також пов'язаних з гіпер- та гіпотоніями гладкої мускулатури.

Використані у роботі методи є досить різноманітними (клітинно-біологічні, флуоресцентно-мікроскопічні, електрофізіологічні, молекулярно-генетичні, загально-фізіологічні, модельно-патофізіологічні, математично-статистичні тощо) та цілком адекватними поставленій меті дослідження, а одержані результати статистично підтверджені, що засвідчує високий рівень професійного вишколу дисертанта.

У результаті проведених досліджень показано, що найбільше каналів TRPV1 синтезується у нейронах дорзальних корінцевих гангліїв порівняно з уротелієм і гладенькими м'язами сечового міхура. Причому, TRPV1 локалізується у внутрішньоклітинних компартментах міозитів, щонайближче до Ca^{2+} -депо клітини, тоді як наявності білка TRPV1 та його функціональної активності у плазматичній мембрані гладеньких м'язів сечового міхура не виявлено. Майже половина (42%) досліджених гладеньком'язових клітин детрузора реагують на прикладання агоніста TRPV1 каналів, капсаїцину підвищенням концентрації кальцію у цитозолі шляхом вивільнення із внутрішньоклітинних Ca^{2+} -депо. Іонні канали TRPV1 детрузору сечового міхура є ланкою сигнального каскаду метаботропних мускаринових ацетилхолінових рецепторів, що опосередковує ~20-40% скорочувального ефекту агоніста зазначених рецепторів, карбахолу на детрузор. Активація NO

макроскопічного струму TRPV1 каналами потребує одночасного використання донорів разом із сульфгідрил-вмісними реагентами, такими як L-цистеїн, які пришвидшують їхній розпад із вивільненням оксиду азоту. При патології в діабетичних умовах TRPV1-індукований струм у нервових волокнах сечового міхура посилюється, тоді як капсаїцин-індуковані скорочення м'язових смужок послаблюються у 2-5 разів, чим можуть пояснюватися різноманітні симптоми, характерні для діабетичних ускладнень.

Окрім безпосередньо витікаючих із роботи висновків стосовно можливостей вирішення ряду проблем, пов'язаних із ускладненнями цукрового діабету, практичне значення роботи також полягає у розвитку розуміння механізмів вивільнення Ca^{2+} у клітинах гладеньких м'язів та керування ними, що важливо для патологій, які виникають унаслідок послабленого тонуусу гладеньких м'язів судин, матки тощо, і навпаки – судом судів різних життєво важливих органів унаслідок порушення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} .

Висновки сформульовані чітко та логічно впливають із результатів досліджень. Основні положення дисертаційної роботи, які викладені у тексті дисертації співпадають з такими у змісті автореферату. Наукову цінність результатів досліджень відображено достатньою кількістю публікацій (5 статей у вітчизняних і міжнародних фахових журналах) та апробовано на вітчизняних та міжнародних наукових конференціях.

Принципових зауважень наукового характеру до результатів роботи немає. Однак, є побажання: 1) конкретніше виражати суть роботи у її назві, оскільки формулювання типу «...у нормі і патології» за умов того, що досліджувався внесок TRPV1 у капсаїцин-індукований діабет не досить чітко відображає зміст зробленого. Тому назву “Експресія та функція капсаїцинового рецептора TRPV1 у сечовому міхурі щура в нормі та при патології” доцільніше було би замінити на «Експресія та функція капсаїцинового рецептора TRPV1 у сечовому міхурі щура в нормі та при діабеті»; 2) окрім поверхневих згадувань про те, що ефекти, пов'язані зі змінами концентрації Ca^{2+} у клітинах гладеньких м'язів крім потенційно-можливого транспорту Ca^{2+} каналами TRPV1 або іншими Ca^{2+} -каналами (Результати та обговорення, стр. 82, Огляд літератури, стр.31) можуть також бути опосередковані іншими білками, наприклад Ca^{2+} -помпами взагалі не розглядаються. Тим часом, збільшення концентрації Ca^{2+} у клітинах гладеньких м'язів може відбуватись, наприклад шляхом блокування зарядженими агентами (агоністи/антагоністи) наприклад Na^+ - K^+ помпи, через розшарування зовнішнього ліфлету ліпідного бішару мембрани, чим може бути спровокований компенсаторний механізм видалення надлишкового Na^+ із клітини іншою, наприклад, Na^+ - Ca^{2+} -помпою, що призводить до значного збільшення концентрації внутрішньоклітинного Ca^{2+} (Paliienko, Veklich, Shatursky, 2019). Тому, крім контрольних дослідів з блокаторами помп, доцільним було би хоча б

згадати про таку можливість у Обговоренні), тим більше, що згідно з результатами капсаїцин-тесту на присутність TRPV1 лише 42% досліджених міозитів вміщували канал, отже, збільшення їхньої внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} (Рис. 3.10 дисертації) могло виникнути не тільки через активацію TRPV1; 3) у списку літератури відсутні посилання на роботи вітчизняних авторів, навіть обзори, що ставить під сумнів наявність в нашій країні школи, необхідної для такого складного типу досліджень, хоча згідно з інформацією, поданою в Авторефераті «...Робота виконана у відділі нервово-м'язової фізіології Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України...»; 4) незважаючи на Перелік умовних скорочень (стр. 10 дисертації) на стр. 32, 75, та ін., автор надає скорочені та повні назви карбахолу, TRPV1, капспзепіну, тощо; 5) в англійській версії Анотації Автореферату (стр. 25) речення «The application of CAPS increased the intracellular concentration of Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$) ions in 42% of isolated SMCs, and the spatial distribution of $[Ca^{2+}]_i$ indicates the localization of TRPV1 in the membranes of intracellular Ca^{2+} store, the endoplasmic reticulum.» не має сенсу. Тому, його доцільно замінити, наприклад на «The spatial distribution of $[Ca^{2+}]_i$ and CAPS-induced increase in intracellular concentration of Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$) suggest the localization of TRPV1 in the membranes of intracellular Ca^{2+} store, the endoplasmic reticulum.».

Ураховуючи актуальність, великий обсяг, високий методичний рівень, новизну і значення проведених досліджень, можна стверджувати, що дисертаційна робота Шаропова Б.Р. є завершеною працею, яка вирішує ряд проблем пов'язаних з локалізацією і функціональним призначенням TRPV1 каналів хребетних у нормальному стані і при діабетичних патологіях, використанням новітніх і мало досліджуваних агоністів та інгібіторів TRPV1 каналів та відповідає вимогам до кандидатських дисертацій, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.02 – біофізика.

Офіційний опонент
провідний науковий співробітник відділу нейрохімії
Інституту біохімії імені О.В. Палладіна НАН України,
д.б.н, с.н.с.

Шатурський О.Я.

Гідініс *Шатурського О.Я.*
ЗАСВІДЧУЮ
Зав. канцелярією
Інституту біохімії ім. О.В.Палладіна
національної академії наук України
"01" 09 2019 р.

