

## ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Коченова Артема Веніаміновича "Збудливість гладеньком'язової клітини: вплив співвідношення іонотропних і метаботропних механізмів (модельні дослідження)" поданої на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності 03.00.02 – біофізика.

Детальний аналіз дисертації Коченова А.В. "Збудливість гладеньком'язової клітини: вплив співвідношення іонотропних і метаботропних механізмів (модельні дослідження)" дозволяє сформулювати наступні узагальнені висновки щодо актуальності, ступеня обґрунтованості основних наукових положень, висновків, рекомендацій, достовірності, наукової новизни, практичного значення, а також загальної оцінки роботи.

### **Актуальність теми дисертаційного дослідження**

Відомо, що порушення у роботі сечовивідної системи вражають значну кількість людей в усьому світі, у тому числі й дітей. Такі патології можуть супроводжуватись порушенням експресії мускаринових холінорецепторів, що веде до негативних наслідків у регуляції скоротливої активності гладеньком'язових клітин детрузора сечового міхура (ГМК ДСМ) парасимпатичною нервовою системою. Проте визначення біофізичних механізмів, що лежать в основі таких порушень, за допомогою натурних експериментів пов'язано зі значними методичними обмеженнями. Це ускладнює розробку ефективних методів коригування патологічного стану. Здається, що виходом з цього становища послугувало би використання для досліджень тваринних моделей, але вони є видоспециічними і хоча загальна картина механізмів функціонування ГМК ДСМ подібна до такої у людини, деталі можуть відрізнятись, як, наприклад, розподіл щільності м-холінорецепторів в гладенькому м'язі сечового міхура.

Багаторічні дослідження функціонування ГМК ДСМ в нормі та при патологічних станах призвели до виникнення багатьох гіпотез відносно ролі того чи іншого механізму регуляції скоротливості ГМК ДСМ, але точні причини

виникнення розладів у цих клітинах досі нез'ясовані, що ускладнює розробку ефективних методів лікування.

Дана робота присвячена вивченню особливостей розвитку збудження ГМК ДСМ за умов варіації співвідношення інтенсивності та часових затримок між ефектами активації іонотропних пуринових та метаботропних мускаринових компонентів парасимпатичних впливів. Варто зазначити, що проблема метаботропної та інотропної регуляції збудження має важливе фундаментальне значення і для біофізики збудливих клітин взагалі. Звичайно, лише внаслідок генерування потенціалу дії запускається скорочення гладеньких м'язів. Але у забезпеченні умов для генерування потенціалу дії, у тонкому регулюванні цього процесу першочергову роль виконують внутрішньоклітинні  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортувальні системи. Поряд з цим необхідно відмітити, що ця робота є надзвичайно актуальна і в практичному аспекті, оскільки велика кількість порушень скоротливості сечовивідних органів так чи інакше пов'язана зі змінами внутрішньоклітинного  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостазу гладеньком'язових клітин. Тому знання всіх аспектів регуляції цитозольним  $\text{Ca}^{2+}$  збудливості ГМК ДСМ у всіх проявах є необхідним для встановлення особливостей протікання тієї чи іншої хвороби і, відтак, розробки відповідних фармакологічних препаратів.

З огляду на це, у теоретичному та практичному аспектах з'ясування механізмів, що лежать в основі метаботропної та інотропної регуляції парасимпатичного збудження ГМК ДСМ є надзвичайно актуальним завданням, а кандидатська дисертація Коченова А.В. є корисною для біофізиків, фізіологів людини і тварин та фармакологів

Актуальність теми також підтверджується тим, що вона пов'язана з програмою науково-дослідних робіт Міжнародного центру молекулярної фізіології НАН України в рамках держбюджетної теми «Біофізичні механізми метастабільності фізіологічних станів клітин, що зазнають іонотропних та метаботропних впливів» (номер державної реєстрації 0114U000909).

Для вирішення чітко сформульованої проблеми автор правильно визначив перелік конкретних задач.

### **Ступінь обґрунтованості і достовірності наукових досліджень і висновків, сформульованих у дисертації**

У ході дослідження було коректно використаний адекватний поставленій меті та завданням дисертації метод математичного моделювання і обчислювального експерименту. Результати базуються на достатній кількості обчислювальних експериментів.

Об'єктивність результатів досліджень і висновків, наведених у дисертації, підтверджується фактичним матеріалом, який наводиться у експериментальній частині роботи та ґрунтується на його аналізі. Суттєво полегшує сприйняття фактичного матеріалу і проведенню його наукової експертизи, на чому потрібно наголосити, велика кількість ілюстрованого матеріалу представленого на 24-х рисунках і 1-му малюнку.

Дисертант критично підійшов до обговорення даних наукової літератури і результатів власних досліджень, що дає підстави говорити про його наукову обізнаність та здатність орієнтуватися у сучасних проблемах дослідження збудливості гладеньких м'язів.

Основні подожження дисертації були успішно апробовані на 5–и наукових форумах (Київ, 2012; Дніпропетровськ, 2013; Київ, 2014; Дніпропетровськ, 2015; Луцьк, 2015), що переконує у доцільності таких досліджень і значенні отриманих результатів.

Отже, ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, наведених у рецензованій дисертації є високим, а Коченов А.В. добре обізнаний з результатами відомих наукових досліджень, вміє критично аналізувати наукові факти, інтерпретувати їх, що дозволило йому адекватно вирішити поставлену наукову проблему. Результати аналізу фактичних даних, наведених у кандидатській дисертації Коченова А.В., їхнього взаємозв'язку і причино-наслідковості переконливо свідчать про те, що вони є достовірними.

### **Наукова новизна дисертаційної роботи**

Оцінюючи найважливіші здобутки даного дисертаційного дослідження, варто зазначити, що досліди з використанням ГМК ДСМ людини пов'язані з вкрай серйозними обмеженнями як методичного, так і етичного плану. Використання комп'ютерного математичного моделювання дозволяє подолати відомі методичні обмеження та отримати принципово нові данні відносно біофізичних механізмів збудження. Тому описані біофізичні процеси, викликані електричним подразненням ГМК або електричною стимуляцією парасимпатичних нервових волокон, у тому числі організованих у відповідності з типовими протоколами, характерними для процедур реабілітаційної електричної стимуляції, істотно доповнюють сучасні уявлення щодо механізмів збудження ГМК ДСМ за різних умов. Також, описаний у роботі модульовальний ефект іонотропних пуринорецепторів може виявитись важливим інструментом для регуляції збудливості ГМК ДСМ.

### **Практична цінність результатів**

Представлена робота має важливе теоретичне й практичне значення. Вона представляє науковий інтерес для фахівців, що працюють в області клітинної молекулярної фізіології та біофізики і практичної медицини. Отримані автором результати мають, насамперед, фундаментальне значення: вперше було розроблено модель ГМК ДСМ, за допомогою якої показано вплив  $Ca^{2+}$ -залежного хлорного струму, зміни співвідношення між іонотропними та метаботропними механізмами на збудливість ГМК ДСМ. Показана автором можливість зменшення порогу збудження у відповідь на імпульс деполяризуючого струму при збільшеній провідності через канали іонотропних пуринергічних рецепторів та зменшення затримки між проявом ефектів активації останніх та м-холінорецепторів при парній стимуляції може бути використана для вдосконалення протоколів реабілітаційної електростимуляції в клініці. Нові дані з цього питання є важливими й у плані формування більш повного уявлення про механізми, що залучені у регуляцію збудливості та скоротливості досліджуваного типу клітин, а отже і шляхи впливу на них.

## **Повнота викладення в наукових працях**

Основні положення дисертації опубліковані в 13 наукових працях, з них: 7 – у наукових фахових журналах, 6 – у тезах доповідей у матеріалах вітчизняних і міжнародних наукових конференцій та з'їздів. Обсяг друкованих робіт та їх кількість відповідають вимогам МОН України щодо публікації основного змісту дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук. Зміст автореферату є ідентичним до змісту дисертації й достатньо повно відображає основні положення дослідження.

## **Аналіз змісту дисертації**

Дисертаційна робота Коченова А.В. представлена за загальноприйнятою формою у повній відповідності до вимог МОН України. Роботу викладено на 170 сторінках, що включає в себе вступ, огляд літературних даних, матеріалів і методів досліджень, опис результатів власних досліджень, обговорення і узагальнення результатів досліджень, висновки, додатки та список цитованої літератури (204 найменування). Отримані результати ілюстровані 24 рисунками, які дають повне уявлення про значну кількість і високу якість експериментів.

**У вступі** Коченовим А.В. обґрунтована актуальність теми дисертації, сформульовані мета і задачі досліджень, викладені наукова новизна та практична значимість отриманих результатів, наведені дані про особистий внесок, публікації та апробацію наукових розробок.

**В огляді літератури** детально розглянуті питання, що стосуються нервової регуляції клітин детрузора сечового міхура, зазначено характеристики порушень сечовипускання, описано біофізичні механізми регуляції ГМК ДСМ, розглянуто взаємозв'язок між змінами мембранного потенціалу та розвитком скорочення ГМК ДСМ.

**У розділі "Матеріали і методи досліджень"** надано вичерпний опис математичних моделей іонних каналів, насосів, механізмів кальцієвої динаміки, які застосовувались для побудови комплексної моделі ГМК ДСМ та протоколів

обчислювальних експериментів, зокрема таких, які використовуються у клінічній практиці.

У розділі **”Результати досліджень”** вивчено:

- характеристики  $\text{Ca}^{2+}$ -залежного хлорного струму та його ролі у збудливості ГМК ДСМ;
- особливості електричної збудливості модельної ГМК ДСМ;
- біофізичні механізми збудження ГМК ДСМ, викликаного електричним подразненням або електричною стимуляцією парасимпатичних нервових волокон;
- вплив змін співвідношення іонотропного та метаботропного компонентів парасимпатичної дії на збудливість ГМК ДСМ;
- особливості біофізичних процесів у ГМК ДСМ при множинній (ритмічній) електричній та парасимпатичній стимуляції.

**Загальні висновки** по дисертації відповідають її змісту, конкретно і стисло висвітлюють основні наукові результати.

Загалом можна зазначити, що дисертація є закінченою науковою роботою, в якій отримані нові наукові результати, що мають теоретичну та практичну цінність. Текст дисертаційної роботи написаний гарною українською мовою.

#### **Дискусійні положення та зауваження щодо дисертаційного дослідження**

Дисертантом проведено великий об'єм досліджень, що підтверджує їх цінність для науки і практики. В той же час, поряд з позитивною оцінкою рецензованої дисертаційної роботи вважаю доцільним виділити окремі дискусійні питання та уточнення загального характеру:

1. В роботі велику увагу приділено пуринаргічним рецепторним каналам, однак майже у всіх експериментах тривалість активності цих каналів фіксована і становить близько 8 мс: наскільки вказане значення тривалості відкритого стану каналу співпадає з експериментальними даними? Теж саме стосується і

тривалості вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  з внутрішньоклітинного кальцієвого депо при моделюванні парасимпатичної активності.

2. У всіх дослідах, де виникає потенціал дії, зміни внутрішньоклітинної концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  досягають пікових рівнів у сотні мікромолей, а це явно перевищує фізіологічну концентрацію. Як можна пояснити такі значення концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  ?

3. При моделюванні ефектів парасимпатичної активації ГМК ДСМ автором розглядається лише активація пуринергічних рецепторних каналів та  $\text{Ca}^{2+}$ -залежних хлорних каналів (як кінцевий результат ланцюгу реакцій від м-холінорецепторів), але майже нічого не сказано про неселективний катіонний струм, який активується у відповідь на ту ж саму подію. Чому Ви оминули увагою цей струм?

4. Є зауваження до ілюстративного матеріалу. Так, у дисертації рисунки 3.10, 3.11, 3.12 на сторінках 89, 92 та 98 займають майже цілу сторінку формату А4, тоді як в авторефераті відповідні рисунки 4, 5, 6 на сторінках 10, 12 та 14 – лише частину сторінки у форматі А3, через що складно розібрати деталі.

5. Автор не завжди доречно використовує поняття “гладкі” та ”гладенькі” м’язи, “саркоплазматична” та “сарко(ендо)плазматична” мембрана. Замість такого виразу як “множинна” стимуляція краще використовувати “ритмічна” стимуляція. Згадані поняття характеризуються принциповими відмінностями.

У цілому дисертаційна робота добре сформована і структуризована відповідно до існуючих вимог. Приведені зауваження і дискусійні питання не є принциповими і зовсім не зменшують позитивної оцінки дисертаційної роботи Коченова Артема Веніаміновича, її наукової і практичної цінності та актуальності. Всі побажання носять робочий характер, які будуть дисертантом враховані у подальшій роботі та сприятимуть науковому росту і вдосконаленню його у перспективі.

**Висновок про відповідність роботи вимогам Порядку присудження наукових ступенів затвердженого постановою Кабінету Міністрів України**

За критеріями актуальності, новизни, науково-методичного рівня, теоретичного значення, аргументованості висновків, повноті викладення результатів у наукових публікаціях, дисертаційна робота Коченова Артема Веніаміновича "Збудливість гладеньком'язової клітини: вплив співвідношення іонотропних і метаботропних механізмів (модельні дослідження)" є закінченим науковим дослідженням, яке відповідає всім вимогам "Порядку присудження наукових ступенів", затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 № 567 (зі змінами), а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.02 - біофізика.

Офіційний опонент,  
провідний науковий співробітник  
Інституту фізіології  
ім. О.О.Богомольця НАН України,  
кандидат біологічних наук



І.Б.Філіппов

Згідно з  
Зас. деп.

