

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

кандидата біологічних наук, старшого наукового співробітника
відділу нейрохімії Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

Крисанової Наталії Валеріївни

на дисертаційну роботу

Оліфірова Бориса Олексійовича

«Участь гіпокальцину в NMDA-рецептор залежній
довготривалій синаптичній депресії»

виконану на здобуття ступеня доктора філософії

з галузі знань 09 Біологія

за спеціальністю 091 Біологія

Актуальність теми дисертаційної роботи

Робота Оліфірова Бориса Олексійовича «Участь гіпокальцину в NMDA-рецептор залежній довготривалій синаптичній депресії» присвячена дослідженню процесів регуляції функціонування глутаматних рецепторів, що лежать в основі синаптичної пластичності. Глутаматергічна нейротрансмісія відіграє значну роль в реалізації більшості функцій мозку, зокрема в розпізнаванні, навчанні та пам'яті. В той же час порушення в процесах сприйняття, обробки та передачі інформації в нервовій системі пов'язані з розвитком багатьох нейрологічних та ментальних розладів.

Згідно з дослідженнями глобального тягара хвороб у 2021 році 3,4 мільярда осіб (43,1% населення світу) мали порушення пов'язані з роботою нервової системи, при цьому з нейрологічними розладами пов'язують 11.1 мільйони смертей, 275 мільйонів років життя, втрачених через інвалідність та 168 мільйонів років життя, втрачених через передчасну смерть. З огляду на зростання поширеності нейрологічних розладів на 58,8% порівняно з 1990 роком, вони розглядаються як найсерйозніша глобальна проблема здоров'я.

В той же час найбільше соціально-економічне навантаження пов'язують з когнітивними порушеннями, розробка терапевтичних підходів щодо профілактики та лікування яких ускладнюється недостатнім вивченням механізмів, що беруть участь у процесах навчання та пам'яті. Ключовим механізмом реалізації цих процесів є синаптична пластичність, ініціація якої відбувається основним вторинним посередником – іонами Ca^{2+} , а величину та напрямок подальших змін зумовлюють специфічні кальцій-залежні білки, що регулюють передачу внутрішньоклітинних сигналів.

Один з таких білків – гіпокальцин, експресія якого відбувається переважно в нейронах гіпокампу, вважається потенційною молекулярною ланкою, що бере участь у формуванні пам'яті. Незважаючи на те, що вивчення механізмів, в яких задіяний гіпокальцин, викликає значний інтерес, цей білок залишається недостатньо вивченим. З огляду на зазначене робота Оліфірова Б.О. присвячена дослідженню ролі гіпокальцину в NMDA-рецептор залежній довготривалій синаптичній депресії, є безумовно актуальною.

Наукова новизна отриманих результатів, їх теоретична та практична значущість

У дисертаційній роботі представлено цілий ряд нових цікавих наукових фактів щодо ролі кальцієвого сенсора гіпокальцину в механізмах NMDAR-опосередкованого ендоцитозу. Зокрема, автором вперше продемонстровано в режимі реального часу транслокацію гіпокальцину до плазматичної мембрани нейронів; візуалізовано колокалізацію гіпокальцину та комплексу адаптерних білків AP2B1 і проведено оцінку їх міжмолекулярної взаємодії; охарактеризовано вплив вмісту PIP2 в клітинних мембранах на перерозподіл гіпокальцину. Окремо слід відмітити адаптацію метода іонофорезу для моделювання локального впливу фармакологічних агентів на нейрони, що

дозволяє проводити дослідження таргетно на рівні окремих функціональних структур нервової клітини та уникати неспецифічних ефектів.

Отримані дані дозволяють поглибити розуміння основних клітинних механізмів синаптичної пластичності і тому мають важливе фундаментальне значення. В той же час результати роботи становлять прикладний інтерес, зокрема, метод на основі іонофорезу для моделювання локального впливу різних агентів, може бути застосований при вирішенні широкого кола задач при дослідженнях в галузі нейрофізіології. Також результати роботи, що стосуються вирішення такої актуальної проблеми сучасної медицини, як регуляція процесів глутаматергічної нейротрансмісії, і зокрема процесів синаптичної пластичності, які останнім часом розглядаються як перспективні мішені для фармакологічної корекції низки неврологічних хвороб та розладів, можуть бути використані при створенні фармакологічних препаратів для попередження та усунення функціональних порушень в нервовій системі.

Обґрунтованість та достовірність наукових положень й висновків

Наукові положення і висновки, що містяться в дисертаційній роботі, є обґрунтованими і логічними, оскільки ґрунтуються на статистично-достовірних результатах сформульовані чітко і ясно та впливають з результатів досліджень. Результати дисертаційної роботи отримані із використанням сучасних методів з достатньою кількістю експериментальних досліджень та проаналізовані з використанням адекватним методів математичного аналізу; що надає їм достовірного характеру. Об'єм фактичного матеріалу є достатнім для обґрунтування виявлених закономірностей, а логічна побудова роботи, аналіз та статистична обробка даних дозволяють чітко аргументувати основні висновки дисертаційної роботи.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Робота виконана в межах наукової тематики відділу біофізики сенсорної сигналізації Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України (0124U001556). Також дисертант входить до колективів виконавців грантів тематики яких безпосередньо дотичні до теми дисертаційного дослідження: «Гіпокальцин-залежна регуляція довготривалої депресії в нормі та при первинній дистонії» (Конкурс наукових, науково-технічних робіт та проєктів, які фінансуються за рахунок зовнішнього інструменту допомоги Європейського Союзу для виконання зобов'язань України у Рамковій програмі Європейського Союзу з наукових досліджень та інновацій «Горизонт 2020», проєкт 0123U102767) та «Nanoscale Hippocalcin Signaling in Long-Term Depression in Norm and Primary Dystonia» (Long-Term Funding by the Polish Academy of Sciences and U.S. National Academy of Sciences, проєкт PAN.BFB.S.BWZ.405.022.2023).

Структура, обсяг та повнота викладення матеріалів дисертаційної роботи

Дисертаційна робота за структурою відповідає усім вимогам МОН України. Вона складається із вступу, огляду літератури, експериментальної частини, яка включає опис матеріалів і методів, отриманих результатів та їх узагальнення, висновків та списку використаних літературних джерел, що охоплює 143 найменування. Дисертацію викладено на 157 сторінках машинописного тексту, із них основного тексту – 118 сторінок. Ілюстративний матеріал дисертації подано у вигляді 31 рисунка і мікрофотографії та 5 таблиць. Також робота включає 2 додатки.

Основні результати, наукові положення та висновки викладені в 12 опублікованих працях, із них 2 статті у фахових наукових виданнях, що

індексується у наукометричних базах Scopus/Web of Science, 1 з яких опублікована в журналі віднесеному до 2-го квартилю (Q2) відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank / Journal Citation Reports. Апробацію результатів засвідчують 10 тез доповідей на конференціях, 3 з яких – за кордоном.

Опубліковані праці свідчать про повноту викладення наукових положень та висновків, сформульованих у дисертації, а їх кількість відповідає вимогам для здобуття ступеня доктора філософії з біології.

Зауваження та запитання до дисертаційної роботи

Загалом дисертація виконана на високому теоретичному й практичному рівні та справляє позитивне враження. В той же час у процесі аналізу дисертаційної роботи виникли окремі дискусійні зауваження та питання:

1. У роботі зазначається що «класична і найбільш розповсюджена в глутаматергічних синапсах NMDA-рецептор залежна LTD індукується за участю рецепторів NR2B-типу» при цьому відсутня інформація щодо наявності в досліджуваних синапсах NMDA-рецепторів інших типів та їх участі в процесах синаптичної пластичності.

2. Варто більш повно описати протокол навантаження нейронів індикатором Fluo-4, зокрема використання Pluronic F-127 або пробенесиду для покращення навантаження, тривалість зберігання навантажених клітини та чи проводилося визначення зміни інтенсивності флуоресценції за відсутності стимулюючих впливів.

3. Обсяг вибірки значно відрізняється між окремими експериментами, які критерії застосовували при його визначенні?

4. Згідно з літературними даними в мембрані розрізняється декілька фракцій фосфатиділінозитол-4,5-біфосфата, основні з яких асоціюються з холестерол-збагаченими ділянками та викривленнями мембрани, і відіграють

різну роль в регуляції динаміки мембран. Чи може відбуватися взаємодія гіпокальцина з якоюсь окремою фракцією фосфатиділінозітол-4,5-біфосфата?

5. Оскільки гіпокальцин залучений в процеси зменшення кількості як AMPA-рецепторів так і кількості NMDA-рецепторів в активних синапсах, наскільки різні види рецепторів можуть бути задіяні в досліджуваних процесах?

6. У тексті також трапляються друкарські помилки, деякі неточності або невдалі формулювання.

Висловлені питання і зауваження не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи, вони мають лише дискусійний або уточнюючий характер.

Загальний висновок офіційного опонента

Дисертаційна робота Оліфірова Бориса Олексійовича «Участь гіпокальцину в NMDA-рецептор залежній довготривалій синаптичній депресії», представлена на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія», є самостійною, оригінальною і завершеною науковою працею, що містить низку важливих наукових результатів, які у сукупності розширюють сучасні уявлення про механізми синаптичної пластичності. За своєю актуальністю, методичним рівнем, обсягом досліджень, науковою новизною, теоретичним і практичним значенням, об'ємом проведених досліджень та відповідністю висновків поставленим завданням і отриманим результатам дослідження повністю відповідає всім вимогам "Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії", затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44 та відповідає напряму наукових досліджень освітньо-наукової програми

Біологія (Біофізика; Фізіологія людини і тварин; Патологічна фізіологія)
третього освітньо-наукового рівня вищої освіти Інституту фізіології ім. О.О.
Богомольця НАН України зі спеціальності 091 Біологія.

Офіційний опонент

кандидат біологічних наук,

старший науковий співробітник

відділу нейрохімії

Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна

НАН України



Наталія КРИСАНОВА

