

РЕЦЕНЗІЯ

Заступника директора з науково-технічної роботи, провідного наукового співробітника відділу фізико-хімічної біології клітинних мембран

Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України,

кандидата біологічних наук

Максимюка Олександра Петровича

на дисертаційну роботу

Надтоки Сергія Олександровича

«Модуляція високопровідних катіонних каналів ядерної мембрани нейронів Пуркінє мозочка щурів лігандами адренергічних і холінергічних рецепторів»,

представлену на спеціалізовану вчену раду PhD 13029

Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України

для розгляду та проведення разового захисту дисертації

на здобуття наукового ступеня доктора філософії

у галузі знань «09 Біологія» за спеціальністю «091 Біологія»

Актуальність проблематики дисертаційного дослідження

Головною проблемою, піднятою у дисертаційній роботі Надтоки Сергія Олександровича, є модуляція властивостей високопровідних катіонних каналів (LCC-каналів) сполуками різних класів, а саме агоністами та антагоністами нікотинових і мускаринових холінорецепторів, а також адренорецепторів. Важливість розгляду і дослідження цього питання пов'язана із раніше описаною гіпотезою щодо можливої участі LCC-каналів у вивільненні іонів Ca^{2+} із внутрішньоклітинних депо, а саме з ендоплазматичного та саркоплазматичного ретикулуму. Враховуючи, чи вихід цих іонів зумовлює локальну зміну заряду мембрани, зміщуючи електрохімічний градієнт та запобігаючи повному вивільненню Ca^{2+} , необхідним є існування компенсаторного струму, роль якого

може виконувати або потік негативно заряджених іонів, що співпадає за напрямком із кальцієвим струмом, або потік позитивно заряджених іонів в протилежному напрямку. Було показано, що LCC-канали є провідними до K^+ , тож можуть реалізовувати другий із наведених сценаріїв, крім цього, щільність їх розташування на ядерній мембрані, сполученій із мембраною ендоплазматичного ретикулуму, корелює зі щільністю інозитол-трифосфатних рецепторів, які і забезпечують вихід Ca^{2+} з депо. Таким чином, LCC-канали можуть розглядатися як перспективні кандидати на роль таких, що забезпечують компенсаторний струм при вивільненні Ca^{2+} . Водночас перевірка цієї гіпотези є ускладненою нестачею даних про будову, функціонування та специфічну регуляцію LCC-каналів. Саме в цьому контексті постає актуальність дисертаційної роботи Надтоки Сергія, оскільки вона суттєвим чином поглиблює розуміння модуляції вказаних каналів сполуками різної хімічної будови та з різними фізіологічними функціями, а також висвітлює особливості впливу цих речовин залежно від сторони мембрани, з якої їх було застосовано. Накопичене знання про вплив досліджених сполук має перспективу бути надалі використаним для встановлення тих особливостей, які роблять ці речовини більш чи менш ефективними модуляторами окремих параметрів електрофізіологічної активності LCC-каналів і, зрештою, для майбутнього синтезу синтетичного модулятора із заданими параметрами, який мій би бути застосованим для перевірки гіпотези про роль цих каналів у внутрішньоклітинній кальцієвій сигналізації.

Наукова новизна отриманих результатів, їх теоретична та практична значущість

Наукова новизна дисертаційної роботи полягає головним чином у змістовному аспекті дослідження впливу на LCC-канали ядерної мембрани нейронів Пуркінє мозочка раніше неописаних сполук, а саме мекаміламін гідрохлориду, ацетилхолін хлориду, карбахолін хлориду, панкуроній броміду,

векуроній броміду, атропін сульфату, платифілін гідротартату, пілокарпін гідрохлориду, норепінефрин гідрохлориду, епінефрин гідрохлориду, пропранолол гідрохлориду, та ізопреналін гідрохлориду. Крім цього, було проведено аналіз особливостей такого впливу залежно від класу фізіологічно-активних речовин (а саме модуляторів нікотинових і мускаринових холінорецепторів та адренорецепторів), і серед досліджених речовин встановлено найефективніші агоністи та антагоністи LCC-каналів як у межах свого класу, так і порівняно з усіма вивченими у роботі сполуками. Окрім того, що ці результати поглиблюють розуміння фундаментальних проблем модуляції високопровідних катіонних каналів, вони можуть бути також використані і з практичною метою, для передбачення впливу і здійснення цільової регуляції функціонування окремих параметрів цих каналів, зокрема, амплітуди струму крізь них та ймовірності їх перебування у відкритому стані, що має цінність для подальших досліджень взаємозв'язку роботи LCC-каналів та Ca^{2+} -опосередкованої клітинної сигналізації, а у випадку підтвердження гіпотези про залученість LCC-каналів до створення катіонного протитоку при вивільненні Ca^{2+} з депо – і для корекції цього процесу.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень та висновків дисертаційної роботи

Висвітлені у дисертаційній роботі дослідження проведені на належному методологічному рівні, використані підходи і техніки детально описані, та свідчать про ретельне планування експериментальної частини, а статистична обробка результатів проведена коректно та адекватно до отриманих даних. Підготовка до самого експерименту також характеризується передбачливістю щодо факторів, які можуть знизити точність досліджень, і запобіганням реалізації цих факторів, як у випадку застосування інгібіторів протеаз та холоду для подовження тривалості перебування зразків та іонних каналів в них у

функціональному стані. Таким чином, з урахуванням ретельності планування і точності виконання досліджень, отримані результати характеризуються високою надійністю, а викладені у дисертаційній роботі наукові положення і висновки є добре обґрунтованими. Обговорення результатів включає їх критичний аналіз та порівняння із працями інших авторів з відповідної тематики, що свідчить про знання сучасної літератури та здатність до інтерпретації досліджень у контексті цілісної системи наукового знання, а висновки є належно аргументованими та впливають безпосередньо із отриманих результатів. Про надійність і достовірність висвітлених у роботі наукових положень і висновків свідчить також їхня успішна апробація на конференціях та публікація у статтях в українських та закордонних фахових виданнях.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота була виконана з використанням речовин, придбаних за кошти гранту Національної Академії Наук України «Фармакологічна чутливість та експресія катіонних каналів великої провідності у ядрах клітин різного типу» (№ державної реєстрації 0121U112012, 2021-2022 рр.), а також в рамках наукових тематик відділу фізико-хімічної біології клітинних мембран Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України:

- «Молекулярні механізми неврологічних розладів та можливі шляхи їх корекції» (№ державної реєстрації 0124U001713, 2024-2028 рр.);
- «Молекулярно-генетичні та фармакологічні засоби впливу на клітинні механізми неврологічних розладів» (№ державної реєстрації 0118U007343, 2019-2023 рр.);
- «Клітинні та молекулярні механізми функціонування нейронів головного та спинного мозку в нормі та патології» (№ державної реєстрації 0116U004473, 2017-2021 рр.);

Структура, обсяг та повнота викладення матеріалів дисертаційної роботи

Дисертація викладена українською мовою, її загальний обсяг становить 171 сторінку, з яких 130 сторінок становить вступ, 4 розділи дисертації («Огляд літератури», «Матеріали та методи досліджень», «Результати», «Обговорення») та висновки. Інші структурні частини включають анотацію, перелік умовних позначень та список використаних джерел, яких налічується 165. Кількість рисунків у роботі становить 46, а результати систематизовані у 5-ти таблицях.

Питання, дискусійні положення і зауваження до дисертаційної роботи

Оцінюючи роботу Надтоки Сергія загалом позитивно, слід висловити певні дискусійні зауваження:

1. При описі іонних каналів внутрішньоклітинних органел значна увага акцентується на описі іонних каналів мітохондрій, які, попри безсумнівну біологічну важливість для функціонування клітини, все ж не є безпосереднім об'єктом дослідження автора.
2. При описі змін електрофізіологічних параметрів у відсотковому співвідношенні відносно контролю надмірним є зазначення десяткової частини, оскільки існування певного розкиду значень в межах груп обмежує можливість встановлення різниці з точністю до десяткових знаків, і використання цілих чисел в цьому випадку полегшило б сприйняття.
3. Висвітлення результатів дослідження амплітуди струму крізь LCC-канали показано стовпчиками, що не є традиційним способом представлення вольт-амперної характеристики і, хоч і не применшує цінності отриманих результатів, ускладнює порівняння результатів із працями інших авторів та не дозволяє візуально оцінити нахил кривої та потенціал реверсії напрямку струму.

Запитання:

1. Яким чином було верифіковано, що іонні канали, активність яких вивчалася на підставі отриманих реєстрацій струму, є саме LCC-каналами?
2. Відомо, що ядерна мембрана складається із двох шарів, зовнішнього і внутрішнього. Якою була локалізація тих LCC-каналів, які Ви вивчали, і чи можна очікувати певні відмінності у електрофізіологічній активності цих каналів залежно від того, на внутрішній чи зовнішній ядерній мембрані вони розташовані?
3. Яка фізіологічна роль модуляції LCC-каналів агоністами та антагоністами адренергічних та холінергічних рецепторів, яким чином цей процес може відбуватися в організмі?

Необхідно зазначити що, висловлені вище зауваження і запитання мають уточнювальний та дискусійний характер, і жодним чином не знижують наукової цінності дисертаційної роботи та не впливають на загалом позитивну її оцінку.

Висновок

Дисертаційна робота Надтоки Сергія Олександровича «Модуляція високопровідних катіонних каналів ядерної мембрани нейронів Пуркінє мозочка щурів лігандами адренергічних і холінергічних рецепторів» є завершеним науковим дослідженням, якому притаманна наукова новизна, актуальність тематики, та яке характеризується як теоретичною цінністю для розвитку фундаментального розуміння функціонування іонних каналів ядерної мембрани, так і практичною цінністю в контексті уможливлення цільової регуляції їх властивостей. Наукові положення, викладені у зазначеній праці, є належним чином аргументованими, і представлена Надтокою Сергієм Олександровичем дисертаційна робота на тему «Модуляція високопровідних катіонних каналів ядерної мембрани нейронів Пуркінє мозочка щурів лігандами адренергічних і

холінергічних рецепторів» відповідає усім вимогам постанови Кабінету Міністрів України №44 від 12 січня 2022 року «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», вимогам до оформлення дисертації, затвердженим наказом МОН України від 12 січня 2017 року №40 (зі змінами, внесеними наказом МОН України від 31 травня 2019 року №759), та відповідає напряму 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».

Рецензент

Заступник директора з науково-технічної роботи, провідний науковий співробітник відділу фізико-хімічної біології клітинних мембран Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, кандидат біологічних наук




Олександр МАКСИМЮК