

## **ВІДГУК**

### **офіційного опонента**

на дисертаційну роботу Кулика В.Б. «Опіоїдєргічна регуляція активності P2X3-рецепторів у нейронах спінальних гангліїв»,  
представлену на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук  
за спеціальністю 03.00.13 – фізіологія людини і тварин.

Аналіз дисертації Кулика В.Б. «Опіоїдєргічна регуляція активності P2X3-рецепторів у нейронах спінальних гангліїв» дозволяє сформулювати наступні узагальнені висновки щодо актуальності, ступеня обґрунтованості основних наукових положень, висновків, рекомендацій, достовірності, наукової новизни, практичного значення, а також загальної оцінки роботи.

### **Ступінь актуальності теми дисертації**

Робота присвячена з'ясуванню механізмів регуляції P2X3-рецепторів у нейронах спінальних гангліїв ендogenous опіоїдом лей-енкефаліном. Актуальність теми підтверджується виконаним комплексом науково-дослідних робіт відділу фізико-хімічної біології клітинних мембран Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України в рамках науково-дослідних робіт: “Механізми внутрішньоклітинної та міжклітинної сигналізації; вивчення шляхів їх модуляції та пошук нових фармакологічних впливів”(номер державної реєстрації – 0107U010843), “Ендogenous та фармакологічна регуляція внутрішньоклітинної та міжклітинної сигналізації в клітинах нервової системи в нормі та патології” (номер державної реєстрації – 0110U004750), “Іонні канали клітинних мембран: функціональна роль в нормі та патології” (номер державної реєстрації - 0113U003964) та “Клітинні сигнальні системи в нормі та патології” (номер державної реєстрації - 0113U007273). А також в рамках гранту для молодих вчених НАН України: “Дослідження молекулярних механізмів знеболення, викликаного опіоїдними анальгетиками” (номер державної реєстрації - 0115U003830).

**Основні наукові положення, висновки і рекомендації, що сформульовані у дисертації, ступінь їх обґрунтованості і достовірності.**

Наукові положення та висновки, які сформульовані в дисертаційній роботі достатньо обґрунтовані. Для вирішення наукових завдань здобувачем використано комплекс сучасних методів дослідження і достатній об'єм статистичних даних, що забезпечили репрезентативність дослідження. Аналіз проведено з використанням коректних комп'ютерних технологій статистичної обробки, що визначило обґрунтованість висновків. Достовірність одержаних результатів, не викликають сумніву. Наведені в дисертаційній роботі теоретичні обґрунтування та експериментальні дослідження виконані коректно на високому науковому рівні. Висновки дисертаційної роботи сформульовані на підставі власних досліджень та беззаперечно містять нові наукові положення.

#### **Наукова новизна дисертаційної роботи**

Дисертантом вперше показано подвійний вплив ендogenous агоніста опіоїдних рецепторів лей-енкефаліну (ЛЕК) на струми, опосередковані P2X3-рецепторами у соматосенсорних нейронах спінальних гангліїв шурів. Доведено, що ЛЕК не впливає на десенситизацію P2X3-рецепторів, а амбівалентна дія опіюїда на зазначені рецептори може опосередковуватися активацією G-білків, чутливих до токсину кашлюку Gi/o- та нечутливих до цього токсину Gq-білків. Зокрема, вперше показано, що ендogenous агоніст опіоїдних рецепторів викликає два протилежно спрямовані впливи на P2X3-рецептори в нейронах спінальних гангліїв, причому обидва ефекти опосередковані активацією фосфоліпази C.

#### **Практична цінність результатів**

Практичне значення роботи полягає в наступному: результати досліджень свідчать про існування раніше не описаних шляхів регуляції активності P2X3-рецепторів у сенсорних нейронах.

Існування різноспрямованих ефектів, викликаних ендogenous опіюїдом, мають істотне практичне значення для розуміння проблем, пов'язаних з добре



відомим переходом інгібуючої дії опіоїдів (аналгезії) до стимулюючих ефектів (розвиток гіпералгезії та/або алодинії в умовах хронічного застосування опіоїдів). З'ясування біохімічних шляхів, що змінюють чутливість до опіоїдів, є важливим завданням для майбутніх досліджень у галузі фізіології та фармакології болю.

### **Повнота викладення в наукових працях**

Результати цілком достатньо висвітлені у 12 публікаціях: 5 - у фахових наукових журналах, 1 з яких міжнародна, та тезах 7 доповідей у відповідних виданнях. 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 і достатньо повно відображає основні положення дослідження.

### **Аналіз змісту дисертації**

Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, викладення результатів дослідження, обговорення результатів, висновків та списку використаних джерел із 209 найменувань. Робота викладена на 129 сторінках та проілюстрована 24 рисунками.

### **Характеристика розділів, оцінка змісту дисертації, її завершеність в цілому**

#### **Вступ**

У вступі Куликом В.Б. обґрунтована актуальність теми дисертації, сформульовані мета і задачі досліджень, викладені наукова новизна та практична значимість отриманих результатів, наведені дані про особистий внесок здобувача, публікації у фахових виданнях та апробацію матеріалів дослідження.

#### **Розділ 1**

Розділ 1 "Огляд літературних даних" складається з 9 пунктів, в яких наведено інформацію про електрофізіологічні та фармакологічні властивості P2X3-рецепторів, висвітлені відомості стосовно регуляції досліджуваних

рецепторів вторинними посередниками, описано фізіологічну роль P2X3-рецепторів та опіоїдних рецепторів в умовах патології. А також, наведено інформацію про механізми утворення ендogenous опіоїдів та їх роль у антиноціцепції.

## **Розділ 2**

В другому розділі “Матеріали та методи дослідження” цілком правильно визначено та обґрунтовано матеріали та об’єкти для досліджень та охарактеризовано використані сучасні взаємодоповнюючі методи. Описано етапи проведення досліджень та всі дії і об’єм проведеної роботи на кожному етапі. Розроблена здобувачем програма дослідження, вибраний методичний інструментарій та обладнання для проведення лабораторних та експериментальних випробувань забезпечили вирішення поставлених завдань та досягнення мети роботи.

## **Розділ 3**

В третьому розділі “Експериментальні дослідження” представлені результати власних досліджень дисертанта. Експериментальна частина роботи цілком логічно пов’язана з її метою та задачами. Детальне ознайомлення з текстом дисертації Вячеслава Кулика дає підстави стверджувати, що експериментальні дослідження відзначаються фундаментальністю та ґрунтовністю. Варто відзначити добру структурованість роботи, логічність викладу, якісне оформлення наукової роботи. В експериментах, з використанням методу «петч-клемп», було оцінено вплив ендogenous опіоїду лей-енкефаліну на активність P2X3-рецепторів у нейронах спінальних гангліїв. Показано, що лей-енкефалін викликає два протилежно спрямовані впливи на P2X3-рецептори. Інhibуючий вплив опіоїда залежить від концентрації та часу прикладання до досліджуваного нейрона. Виявлено, що обидва впливи лей-енкефаліну на P2X3-стими опосередковані активацією  $\mu$ -опіоїдних рецепторів. Встановлено, що взаємозв’язок  $\mu$ -опіоїдних рецепторів з P2X3-рецепторами забезпечується активацією щонайменше

двох типів G-білків та PLC. Вищенаведене вказує на існування принципово нового механізму регуляції P2X3-рецепторів.

#### **Розділ 4**

В четвертому розділі “Обговорення” ретельно проаналізовано отримані результати. Автор порівнює їх з результатами інших дослідників і робить відповідні узагальнення.

#### **Висновки**

Цей розділ складається з узагальнюючого висновку та шести положень. Висновки дисертації повністю відповідають її змісту, конкретно і стисло висвітлюють основні результати роботи.

Загалом можна зазначити, що дисертація є закінченою науковою роботою, в якій отримані нові наукові результати, що мають теоретичну та практичну цінність.

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

Суттєвих зауважень щодо оформлення дисертаційної роботи немає. Структура та зміст автореферату ідентичні тим, що наведені в дисертації. Висновки дисертації логічні, завершені і відповідають результатам дисертаційного дослідження. Ряд зауважень і пропозицій, які були обговорені з дисертантом, взяті до уваги та опрацьовані. Поряд з цим виникло ряд питань, які носять дискусійний характер і не впливають на загальний позитивний висновок проведеного наукового дослідження.

- 1.Оскільки активація опіюїдних рецепторів викликає два протилежно спрямовані впливи на P2X3-рецептори, чому в нормальних умовах проявляється тільки інгібування?
- 2.Ви описуєте, що інкубація нейронів спінальних гангліїв з токсином кашлюку призводить до стимулюючого впливу ендогенного опіюїда на P2X3-рецептори. Чи існують певні фізіологічні передумови, при яких може відбуватись такий вплив?



3. На даний час відомо, що тривале застосування опіоїдів може викликати гіпералгезію. Поясніть, які механізми можуть лежати в основі такого впливу?

До зауважень слід додати і те, що в роботі зустрічаються стилістичні помилки та неточності. Однак ці зауваження суттєво не впливають на основні положення дисертаційної роботи.

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

Дисертація Кулика Вячеслава Борисовича є структурованою, цілісною, завершеною науково-дослідною роботою, а отримані в ній результати вирішують поставлені задачі. Оформлення дисертації і автореферату в цілому, з урахуванням зазначених вище зауважень, відповідає діючим нормативним документам. Представлена дисертаційна робота відповідає вимогам, що висуваються до кандидатських дисертацій згідно з п.п. 9, 11, 12, 13 “Порядку присудження наукових ступенів”, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567, а її автор, Кулик В.Б., заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.13 – фізіологія людини і тварин.

Доктор біологічних наук,  
академік АН ВШ України, професор,  
завідувач кафедри фізіології людини  
та тварин Навчально-наукового  
центру «Інститут біології» Київського  
національного університету імені  
Тараса Шевченка.



Макарчук М. Ю.

ПІДПИС ЗАСВІДЧУЮ  
ВЧЕНИЙ СЕКРЕТАР НАЧ  
КАРАУЛЬНА І.  
29.09.2019

