

ВІДГУК

офіційного опонента

на дисертаційну роботу Єгорової О. В. “Високоафінна позитивна модуляція кальцієвих каналів Р-типу агоністами μ -опіоїдних рецепторів”, представлену на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук по спеціальності біофізика - 03.00.02.

Детальний аналіз дисертації Єгорової О. В. “Високоафінна позитивна модуляція кальцієвих каналів Р-типу агоністами μ -опіоїдних рецепторів” 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 актуальність теми дисертації

Робота присвячена новому механізму регуляції високопорогових кальцієвих каналів агоністами опіоїдних рецепторів.

Актуальність теми підтверджується виконанням 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), “Ендогенна 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, висновки і рекомендації, 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, які сформульовані в дисертаційній роботі, сформовані на підставі власних досліджень та беззаперечно містять нові наукові положення.

Наукова новизна дисертаційної роботи

Дисертантом вперше показана наявність позитивної високоафінної модуляції кальцієвих каналів Р-типу агоністами μ -опіоїдних рецепторів, що не є опосередкованою G-білками або процесами, залежними від фосфорилування. Вперше показано, що опіоїдні рецептори здатні чинити безпосередній вплив на Р-канали. А агоністи опіоїдних рецепторів можуть взаємодіяти з кількома типами опіоїдних рецепторів в одній і тій же клітині, викликаючи протилежні ефекти, що вказує на існування принципово нового механізму регуляції кальцієвих каналів.

Практична цінність результатів

Практичне значення роботи полягає в наступному: оскільки отримані принципово нові дані про модулюючу дію агоністів опіоїдних рецепторів на високوپороговий кальцієвий струм. Результати дисертаційної роботи насамперед мають фундаментальний інтерес, оскільки містять нові наукові положення для формування більш повних уявлень про механізми, що здійснюють регуляцію високوپорогових кальцієвих каналів.

Повнота викладення в наукових працях

Результати цілком достатньо висвітлені у 15 публікаціях: 6 - у фахових наукових журналах, 3 з яких міжнародні, та тезах 9 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 228 найменувань. Робота викладена на 133 сторінках та проілюстрована 42 рисунками та 2 таблицями.

Характеристика розділів, оцінка змісту дисертації, її завершеність в цілому

Вступ

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

Розділ 1

Розділ 1 “Огляд літературних даних” складається з 6 розділів, в яких наведено інформацію про структуру та функції мозочку, висвітлені відомості про кальцієві канали плазматичної мембрани та їх регуляцію. Значну цікавість викликають клітинні механізми модуляції кальцієвих каналів, не пов’язані з активацією G-білків. Необхідність вирішення окреслених наукових проблем стала передумовою вибору напрямку досліджень, описаних в дисертаційній роботі.

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 О. Єгорової дає підстави стверджувати, що експериментальні дослідження відзначаються фундаментальністю та ґрунтовністю. Варто відзначити добру структурованість роботи, логічність викладу, якісне оформлення наукового апарату роботи. Експерименти на гостроізолюваних нейронах Пуркінє мозочку щурів показали, що селективний агоніст MOR DAMGO в наномолярних концентраціях викликав невелике, але статистично достовірне посилення струму, який проходить через P-тип кальцієвих каналів. Було показано, що механізми, які приймають участь у модуляції опіоїдами P-струму, відмінні від добре відомих механізмів за участю G-білків, або процесів залежних від фосфорилування. Отримані дані свідчать, що опіоїди можуть взаємодіяти як з μ -, так і з іншими опіоїдними рецепторами в тій же самій клітині викликаючи конкуруючі ефекти на кальцієвих каналах P-типу. Вищенаведене вказує на існування принципово нового механізму регуляції кальцієвих каналів

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 п’яти 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 були обговорені з дисертантом, були 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. Чому ви використовували клітини Пуркінє мозочка? Адже мозочок мало задіяний в механізмах больової сигналізації, в якій приймають участь опіюїдні рецептори.
2. Слід зазначити, що досліджена модуляція Р-струмів МОР виявилася не дуже значною $\sim 10\%$ і менше, часто такі ефекти відносять до неспецифічної дії фармакологічних агентів?
3. Четвертий розділ є узагальненням отриманих результатів, тому його, на мою думку, недоцільно було подрібнювати на окремі розділи.
4. Автору слід було ширше описати практичне значення даної роботи, що безперечно є сильною її стороною.
5. Дана робота присвячена принципово новому механізму модуляції високопорогових кальцієвих каналів Р-типу агоністами опіюїдних рецепторів, причому на відміну від класичного механізму, ця модуляція не є опосередкованою гетеротримерними G-білками. Проте, молекулярний механізм цього ефекту досліджений недостатньо, і наразі конкретний сайт зв'язування опіюїдів на власне самому каналів не визначений. Визначення конкретного механізму прикрасило б цю роботу.

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 Єгорової Олени Володимирівни 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 і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника” (зі змінами), затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567, а її автор, Єгорова О.В., заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.02 – біофізика.

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



М. С. Мірошніченко

ПІДПИС ЗАСВІДЧУЮ
ВЧЕНИЙ СЕКРЕТАР НАЧ
КАРАУЛЬНА Н.В.
28.09.2016р

