

14 січ 2019
Вх. № 77/03-07 *Акаф*

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу **Жерносекова Дмитра Даниловича** на тему – «**Поліфункціональна роль адгезивних протеїнів у міжклітинних контактах тканин ссавців в онтогенезі та за патологічних станів**», представленої в спеціалізовану вчену раду Д 26.240.01 Інституту біохімії ім. О.В.Палладіна НАН України на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук 03.00.04 – біохімія.

Актуальність теми. На мою думку, завжди до пріоритетних напрямків сучасних біохімічних досліджень належатимуть такі, які вивчають механізми взаємодії клітин у тканинах ссавців та людини, особливо закономірності експонування та структурних змін адгезивних протеїнів (АП) клітинної поверхні, що може дати уявлення про формування міжклітинних контактів, які забезпечують функціонування систем організму під час фізіологічних та патологічних змін. Тому вивчення поліфункціональної ролі адгезивних протеїнів у міжклітинних контактах тканин ссавців слід вважати актуальним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами установи, де виконувалась дисертація. Дисертаційна робота виконана відповідно до програми експериментальних досліджень, спланованих, проведених та узагальнених протягом 1991-2016 рр. на кафедрі біохімії Дніпровського університету ім. О. Гончара у рамках бюджетних наукових тем «Дослідження нервово специфічних білків у нормі та за наявності факторів ризику з ціллю розробки методів діагностики патологічних станів дітей» (№ 40-94, № ДР 095U014532) та «Фундаментальні дослідження впливу синергічної дії екопатогенних чинників та наукове дослідження обґрунтування нових комплексних методів діагностики, корекції та профілактики порушень стану здоров'я населення» Міністерства освіти України (№ 02-20-97, № ДР 0197U000653). Експериментальна частина роботи в період 2006-2017 рр виконувалася у відділі хімії та біохімії ферментів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України в рамках бюджетних наукових тем «Структурно-функціональний аналіз білків за норми та деяких патологій» (№ ДР 0107U007187, 2007- 2011 рр.), «Молекулярні механізми функціонування ферментів системи гемостазу» (№ ДР 0110U002701, 2010-2012 рр.), «Розробка діагностикумів для тестування стану системи руйнування тромбів» (№ ДР 0113U003649, 2013-2015 рр.), «Ангіостатини як ендогенні регулятори функціональної активності

клітин» (№ ДР 0112U002624, 2012-2016 рр.), «Механізми регуляції плазміноген/плазміном міжклітинних та міжмолекулярних взаємодій в системі гемостазу за норми та патології» (№ ДР 0113U003203, 2013-2017 рр.).

Метою роботи було розкрити закономірності експресії/експонування адгезивних протеїнів та дослідити роль плазміноген/плазмінової системи у формуванні адгезивних взаємодій між тромбоцитами.

Для досягнення мети було поставлено наступні задачі:

1. Вивчення закономірностей експресії нейронального протеїну клітинної адгезії N-CAM-1 у скелетних та серцевих м'язах у різні періоди постнатального розвитку та за старіння шурів.
2. Дослідження тканиноспецифічної експресії матричних РНК та поліпептидних ізоформ протеїнів кадгеринової родини.
3. З'ясування ролі протеїну клітинної адгезії кадгеринової родини CDH2 у процесі навчання за застосування експериментальної моделі.
4. Виявлення модулюючого впливу компонентів плазміноген-плазмінової системи на формування адгезивних зв'язків між тромбоцитами.

Що стосується **наукової новизни одержаних результатів**, то автором **вперше** було:

- 1) показано, що *під час постнатального розвитку скелетних та серцевих м'язів експресія мРНК* (що кодують протеїн N-CAM-1) знижується, а *під час старіння – підвищується*. *Аналогічні кількісні зміни відбуваються для протеїну N-CAM-1 у тканинах скелетних та серцевих м'язів*. Ці дані та результати досліджень стосовно експресії додаткових м'язово-специфічних екзонів дають підстави для висновку, що експресія мРНК протеїну N-CAM є відображенням компенсаторних механізмів, що відбуваються у м'язовій тканині під час старіння ссавців.
- 2) виявлено аутоантитіла, які реагують з поліпептидами мембральної та цитоскелетної фракції протеїнів головного мозку людини, в сироватці крові хворих з гострою формою шизофренії, що свідчить про деструктивні зміни в нервовій тканині під час гострої фази шизофренічної хвороби.
- 3) визначено класи мРНК, які забезпечують тканиноспецифічну експресію N-, E- та P кадгеринів (CD H2, CD H1 та CDH3) у тканинах головного мозку, печінки, серцевих та скелетних м'язів, нирок і легень шура, а також показано певний перебіг експресії мРНК нейрональних кадгерину і протеїну імуноглобулінової родини в тканинах, а саме: в

першому випадку він змінюється залежно від періоду постнатального розвитку тварини, у другому - постійний як для неонатального періоду, так і за старіння.

- 4) продемонстровано, що Lys-плазміноген з характерною відкритою конформацією спричиняє інгібувальний вплив на агрегацію тромбоцитів, і запропоновано механізм підвищеного експонування адгезивного протеїну віtronектину на тромбоцитарній поверхні за наявності у середовищі інкубації Lys-плазміногену.
- 5) з'ясовано, що на поверхні тромбоцитів виникають порушення реконструкції актинових мікрофіламентів через взаємодію Lys-плазміногену з рецепторами в результаті чого зменшується кількість експонованого Р-селектину та Glu-плазміноген посилює агоніст-індуковане експонування фосфатидилсерину.

З практичної сторони дисертантом було запропоновано, що виявлені закономірності експресії мРНК нейронального протеїну клітинної адгезії N-CAM можна використовувати для створення експериментальних моделей вивчення змін у серцевих і скелетних м'язах за старіння, а розроблений ним метод визначення аутоантитіл до вищевказаного протеїну в сироватці хворих з гострою формою шизофренії - у клінічних дослідженнях.

Виявлений модулюючий вплив плазміногену на ефективність адгезивного зв'язку між тромбоцитами можна застосовувати у розробці оптимальних методів фармакологічної корекції обумовлених тромботичними ускладненнями патологічних станів.

Результати і висновки роботи також можуть бути використані у викладанні курсів «клітинна біологія» та «молекулярна біологія» у вузах медикобіологічного профілю.


Апробацію одержаних результатів проведено на високому рівні. За матеріалами дисертації опубліковано 67 наукових праць, в тому числі монографія, 33 статті (з яких 22 і 4 статті - відповідно в фахових і закордонних виданнях) і 33 тези доповідей на вітчизняних і міжнародних конференціях та з'їздах.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 319 сторінках друкованого тексту і складається із вступу, основної частини, що включає огляд літератури, експериментальну частину (2 розділи) та **заключення, висновків, списку використаних літературних джерел (498 найменувань)**. Робота ілюстрована 5 таблицями та 74 рисунками.

Автором використані **методи** досліджень: нозерн-блот та вестерн-блот-аналіз, імуноферментний аналіз, протокова цитофлуориметрія, електрофорез в ПААГ, модель умовного рефлексу пасивного уникнення, статистичний аналіз.

Отримані результати досліджень заслуговують високої оцінки і мають елементи новизни, фундаментальне та науково-практичне значення. Вони достатньо висвітлені в наукових виданнях, а також апробовані на багатьох репрезентативних наукових форумах. Найголовніше, вони дозволили зробити ряд важливих для теорії і практики висновків, які виділено на окремих сторінках.

Поряд з наведеними позитивними сторонами дисертаційної роботи і автореферату, на мій погляд, необхідно виділити наступні **дискусійні питання, побажання та зауваження**:

1. Які ви могли би виділити у досліджуваних у вашій роботі процесах міжклітинних контактів можливі молекулярно-біохімічні механізми?
2. До яких компенсаторних механізмів залучений адгезивний протеїн N-CAM у м'язах під час старіння ссавців?
3. На мою думку, дисертанту бажано коротко сформувати для себе наукову новизну і практичне значення роботи, щоб у доповіді чітко підкреслити, що саме нового у розвиток біомедицини привніс автор і які з його доробків корисні для медичної практики.
4. Оскільки робота подається у ракурсі теоретичної роботи з біохімії, то для кращого її розуміння слід подати гіпотетичну схему або таблицю з узагальненням ~~найосновніших~~ власних результатів вивчення поліфункціональної ролі адгезивних протеїнів у міжклітинних контактах тканин ссавців, *можливо (якщо це необхідно) порівнюючи* з даними літератури, таким чином, виділивши власний внесок у даний напрямок досліджень.
5. Для кращого сприйняття всієї виконаної експериментальної роботи у розділі «Матеріали і методи» краще було би представити на рисунку схему досліджень.
6. Розділ дисертаційної роботи «Заключення» слід назвати «Обговорення результатів досліджень».

Загальний висновок.

Дисертаційна робота **Жерносекова Дмитра Даниловича**, присвячена дослідженю поліфункціональної ролі адгезивних протеїнів в міжклітинних контактах тканин ссавців, є цілісною, закінченою науковою працею. За своєю актуальністю, методичним рівнем, науковою новизною і практичною цінністю отриманих результатів, глибиною розкриття поставлених проблем, логічністю і обґрунтованістю висновків дисертація повністю відповідає вимогам п.п. 9, 10, 12, 13 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України №567 від 24.07. 2013 р. (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015, № 1159 від 30.12.2015 р. та № 567 від 27.07. 2016 р.), які висуваються до докторських дисертацій, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Доктор біологічних наук,
професор кафедри біохімії і фізіології тварин
імені академіка М.Ф. Гулого
Національного університету біоресурсів
і природокористування України

Л. Г. Калачнюк

ПІДПИС ЗАСВІДЧУЮ	
Начальник відділу кадрів	
М. В. Михайліченко	
14	» 01
2019 р.	

