



ВІДГУК

офіційного опонента на дисертацію

Данилович Ганни Вікторівни

«БІОСИНТЕЗ ТА РЕГУЛЯТОРНА РОЛЬ ОКСИДУ АЗОТУ

В МІТОХОНДРІЯХ ГЛАДЕНЬКОГО М'ЯЗА»,

подану до захисту в спеціалізовану раду Д 26.240.01 в Інституті біохімії ім.

О.В. Палладіна НАН України на здобуття наукового ступеня доктора

біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія (галузь знань 091 –

біологія)

Актуальність теми дисертаційної роботи

Оксид азоту (NO) є важливим регулятором функціонування багатьох тканин і органів, зокрема, гладеньком'язових стінок судин і вісцеральних порожнистих органів, а також нервової тканини мозку. Зокрема, рівень синтезу цього газотрансмітера у тканинах матки визначає ступінь напруження гладеньком'язових клітин міометрія. Наразі препарати-донори NO, зокрема, нітрогліцерин, використовуються у якості токолітиків для терапії передчасних пологів.

У тканині матки експресуються декілька ізоформ синтази оксиду азоту (NOS), що дозволяє оптимізувати регуляцію активності протеїнів у різних компартментах клітин, зокрема іонної провідності плазматичної мембрани (за шляхом NO – NOS – розчинні гуанілатциклази – протеїнкіназа G – K⁺-канали і Ca²⁺-канали), Ca²⁺-гомеостатичної функції внутрішньоклітинних кальцієвих депо (за рахунок пригнічення вивільнення цих катіонів через інозитол-1,4,5-трифосфат-чутливі Ca²⁺-канали ендоплазматичного ретикулуму) та окремих цитозольних ензимів. Втім, роль мітохондрій у синтезі NO в гладенькому м'язі матки (міометрії) не вивчалась. Також не показана наявність мітохондрійної синтази оксиду азоту (mtNOS) в цій тканині. Тому наразі залишається потреба комплексних, детальних досліджень щодо з'ясування біохімічних властивостей мітохондрійної NOS, а також ролі оксиду азоту у регуляції Ca²⁺-транспортних систем та біоенергетики мітохондрій.

Тож напрямком дисертаційного дослідження Ганни Вікторівни Данилович має непересічну актуальність – комплексне, із залученням сукупності найсучасніших методів біохімії, клітинної біології та комп'ютерного моделювання вивчення біохімічних властивостей функціонування mtNOS та механізмів її участі у регуляції процесів депонування і вивільнення іонів Ca^{2+} мітохондріями та роботи електрон-транспортного ланцюга цих органел.

Зв'язок теми з державними науковими програмами

Дисертаційна робота Г.В. Данилович «Біосинтез та регуляторна роль оксиду азоту в мітохондріях гладенького м'яза» виконана в рамках тем наукових досліджень відділу біохімії м'язів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, а також ж за підтримки державних грантів (проектів Державного фонду фундаментальних досліджень України, цільової комплексної міждисциплінарної програми наукових досліджень НАН України, програм наукових досліджень НАН України “Фундаментальні основи молекулярних та клітинних біотехнологій”).

Наукова новизна і достовірність одержаних результатів

Аналізуючи основні питання наукової новизни дисертаційної роботи Г.В. Данилович, маю відзначити, що дисертанткою вперше здійснене комплексне, із залученням методів біохімії, клітинної біології та комп'ютерного моделювання дослідження функціонування mtNOS і ролі NO в підтриманні збудливості міоцитів матки та участі в регуляції енергетичних і Ca^{2+} -транспортувальних систем мітохондрій.

Ганною Вікторівною Данилович вперше доведено, що оксид азоту в мітохондріях спричинює посилення акумуляції Ca^{2+} цими органелами, здійснює помірну деполяризацію внутрішньої мембрани та захищає їх від висококальцієвого набухання. Авторкою також уперше розроблено та апробовано імітаційне моделювання з використанням гібридних мереж Петрі концентраційно-часових ефектів дії нітросполук на енергетичний гомеостаз і функціонування мітохондрій. Крім того слід зазначити, що в дисертаційній роботі було вперше одержано важливі результати щодо вивчення іонних та

мембранних механізмів дії сполук - калікс[4]аренів на функціональну активність мітохондрій, зокрема синтез оксиду азоту, обмін іонів Ca та поляризацію мембрани цих органел.

Практичне значення представленої роботи

Дисертаційна робота Ганни Вікторівни Данилович «Біосинтез та регуляторна роль оксиду азоту в мітохондріях гладенького м'яза» має непересічне практичне значення, оскільки її результати досліджень по вивченню регуляції енергетичного і кальцієвого гомеостазу в мітохондріях оксидом азоту можуть бути безпосередньо використані для розробки методів модуляції тонусу і скорочувальної функції міометрія при порушеннях вагітності та пологів.

Також у дисертації Г.В. Данилович фактично представлено алгоритм спрямованого скринінгу дії сполук - потенційних ефекторів кальцієвого гомеостазу і біосинтезу оксиду азоту в мітохондріях, який вдало апробовано на калікс[4]аренах С-956, С-97, С-99 та С-107.

Варто також відмітити практичне значення створеної авторкою дисертації моделі моделювання з використанням гібридних мереж Петрі концентраційно-часових ефектів дії нітросполук на функціонування мітохондрій, оскільки дану розробку можна надалі активно використовувати для попереднього скринінгового дослідження закономірностей впливу інших речовин на ці органели.

Матеріали дисертації Г.В. Данилович безумовно будуть корисними у вищих навчальних закладах біологічного і медичного спрямування при читанні курсів з біохімії, біомедичної хімії, біофізики, молекулярної фізіології, молекулярної фармакології та біоінформатики.

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації

Дисертація Ганни Вікторівни Данилович «Біосинтез та регуляторна роль оксиду азоту в мітохондріях гладенького м'яза» виконана на достатньому експериментальному матеріалі за допомогою адекватних сучасних методик

відповідно до мети та завдань роботи. Усі наукові положення і висновки повністю обґрунтовані, випливають зі змісту роботи, а також мають суттєве практичне і теоретичне значення.

Матеріали дисертаційної роботи Г.В. Данилович повністю оприлюднені в 51 друкованій праці, з яких 1 монографія, 26 – статей у фахових виданнях (зокрема 21 стаття у виданнях, що входять до міжнародної наукометричної бази даних SCOPUS). Матеріали дисертації активно доповідалися на вітчизняних та міжнародних наукових конференціях, про що свідчать 24 тези доповідей.

Як свідчить аналіз представленої наукової праці, дисертація Ганни Вікторівни Данилович «Біосинтез та регуляторна роль оксиду азоту в мітохондріях гладенького м'яза» має класичну структуру та складається зі вступу, огляду літератури, розділу матеріалів та методів дослідження, розділу результатів власних досліджень, заключного розділу, висновків та списку використаних джерел із 492 найменувань та додатків. Експериментальний матеріал дисертації ілюстрований 100 рисунками, 2 узагальнюючими схемами та 5 таблицями.

У розділі «Матеріали і методи дослідження» авторка науково обґрунтувала необхідність використання комплексу методичних підходів: препаративної біохімії, флуоресцентних та ензиматичних методів, імітаційного комп'ютерного моделювання, сукупності кінетичних методів аналізу. Усі використані методи є адекватними для вирішення поставлених у роботі завдань. Експериментальні методи цілком відповідають вимогам біоетики.

Розділ власних досліджень автора побудований з п'яти пунктів, у яких послідовно і аргументовано викладено дані щодо ідентифікації та властивостей синтезу NO в мітохондріях міомерія; детального аналізу процесів підтримання Ca^{2+} -рівноваги у цих органелах; визначення механізмів, за якими mtNOS регулює іонний та енергетичний гомеостаз у мітохондріях; здійсненням розробки імітаційної моделі і аналізу за її допомогою функціонування мітохондрій за дії нітросполук; біохімічних механізмів NO, Ca^{2+} -залежної дії калікс[4]аренів C-956, C-97, C-99 та C-107 на функціонування мітохондрій.

Загалом, результати наукової експертизи методичного та експериментального розділів роботи беззаперечно вказують на те, що Г.В. Данилович є висококваліфікованим вченим-експериментатором і вона цілком здатна вирішувати складні наукові проблеми на стику біохімії, біофізики та медицини.

У «Заключному розділі» авторка детально аналізує отримані у роботі результати, аргументовано та посилаючись на найсучасніші дані інших вчених обговорюючи біохімічні механізми участі NO у регуляції біоенергетичних процесів та іонного гомеостазу в мітохондріях. У цьому розділі містяться розроблені автором на основі власних досліджень узагальнюючі схеми механізмів регуляції оксидом азоту внутрішньоклітинних процесів, а також механізмів дії калікс[4]аренів С-956, С-97, С-99 та С-107 на синтез NO та енергетичний гомеостаз у гладеньком'язовій клітині.

Висновки дисертаційної роботи є чіткими та лаконічними. Зміст автореферату у повній мірі віддзеркалює основні положення дисертації.

У процесі ознайомлення з матеріалами дисертаційної роботи у мене виникли наступні дискусійні моменти і запитання:

1. Яким чином, на Вашу думку, NO може пригнічувати вивільнення іонів Ca^{2+} з саркоплазматичного ретикулуму, у випадку активації гладеньком'язових клітин агоністами метаботропних рецепторів (окситоцином, ацетилхоліном)?

2. Чи може NO безпосередньо або опосередковано впливати на роботу Na^+ , Ca^{2+} -обмінника?

3. У дисертаційній роботі переконливо доведено, що NO впливає на роботу Ca^{2+} -помпи плазматичної мембрани. Як Ви вважаєте, чи є ці ефекти специфічними та чи чинитиме аналогічну дію NO на Ca^{2+} -помпу саркоплазматичного ретикулуму?

Висновок про відповідність дисертації вимогам, які пред'являють до наукового ступеня доктора біологічних наук

Дисертаційна робота Ганни Вікторівни Данилович «Біосинтез та регуляторна роль оксиду азоту в мітохондріях гладенького м'яза» виконана у відділі біохімії м'язів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України і є

завершеною науково-дослідницькою роботою, в якій отримані нові науково обгрунтовані експериментальні дані, що в сукупності є суттєвими для розуміння біохімічних механізмів функціонування mtNOS та механізмів її участі у регуляції процесів депонування і вивільнення іонів Ca^{2+} мітохондріями, а також роботи електрон-транспортного ланцюга цих органел.

Дисертація Ганни Вікторівни Данилович «Біосинтез та регуляторна роль оксиду азоту в мітохондріях гладенького м'яза» за своєю актуальністю, науковою новизною, практичним значенням отриманих результатів, обгрунтованістю основних положень та висновків повністю відповідає вимогам пп. 9, 10, 12, 13 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 року (з актуальними змінами), що стосуються докторських дисертацій, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня доктора біологічних наук зі спеціальності 03.00.04 – біохімія.

Офіційний опонент,
професор кафедри молекулярної
біотехнології та біоінформатики
Інституту високих технологій
Київського національного університету
імені Тараса Шевченка МОН України
доктор біологічних наук, доцент

О.В. Цимбалюк

Ліцензійне відділення
Вища освіта
КАРАУЛЬНА Н.В.
25.11.2021р.

