

Відзив

офіційного опонента на дисертаційну роботу Жерносекова Дмитра Даниловича “Поліфункціональна роль адгезивних протеїнів у міжклітинних контактах тканин ссавців в онтогенезі та за патологічних станів”, подану на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Розпізнавання та зв'язування функціонально комплементарних молекул є ключовою ланкою регуляції фізіологічних та патофізіологічних процесів молекулярного та клітинного рівнів. Зокрема, міжклітинні асоціативні процеси є невід'ємною складовою формування та функціонування найрізноманітніших тканин. В цих процесах особливе місце посідають адгезивні протеїни, що опосередковують асоціативні взаємодії між клітинами та передачу сигналу всередину клітин. Саме функціонуванням білків клітинної адгезії опосередковано міграцію клітин, нормальне функціонування організму та його реакцію на вплив різноманітних чинників. Ці ж молекули відіграють важливу роль в процесі формування пам'яті, а порушення їх дії пов'язане з розвитком багатьох захворювань центральної нервової системи. Нефункціональні адгезивні взаємодії між клітинами крові та судинною стінкою становлять ключову ланку розвитку серцево-судинних патологій. Відомо, що біосинтез та функціонування адгезивних протеїнів зазнають змін протягом розвитку організму та підлягають впливу найрізноманітніших чинників. Всебічне дослідження цих процесів має як науково-пізнавальне значення, так і практичне, оскільки прояви функціональних змін адгезивних протеїнів може бути інформативним показником перебігу різноманітних рекогнітивних, асоціативних та регуляційних процесів, що відбуваються в організмі за норми та патології. Тож тема розглянутої роботи – з'ясування ролі адгезивних протеїнів в міжклітинних контактах – видається актуальною та заперечень не викликає.

За мету роботи обрано з'ясування закономірностей експресії та експонування адгезивних протеїнів та дослідження ролі плазміноген/плазмінової системи у формуванні адгезивних взаємодій між тромбоцитами. Відповідно до мети поставлено низку практичних завдань, що включали вивчення експресії нейронального протеїну N-CAM в скелетних та серцевих м'язах протягом різних стадій постнатального розвитку та старіння, вивчення тканинспецифічну експресію матричних РНК та ізоформ протеїнів кадгерінового сімейства, виявлення протеїну клітинної адгезії кадгерінової родини CDH2 в процесі навчання при застосуванні експериментальної моделі та виявлення модулюючого впливу компонентів плазміноген-плазмінової

системи на формування адгезивних зв'язків між тромбоцитами. Подібна деталізація видається виправданою і заперечень не викликає.

Робота побудована за традиційною схемою і містить вступ, основну частину, що складається з огляду літератури, двох розділів експериментальної частину та заключення, висновки та список використаних літературних. У вступі висвітлено наукову проблему, обґрунтовано актуальність теми роботи, сформульовано мету і завдання дослідження, окреслено наукову новизну і практичне значення результатів, надано загальні відомості про обсяг дисертації. Огляд літератури свідчить про глибоке оволодіння автором найсучаснішими науковими здобутками за темою роботи. На належному рівні висвітлено сучасний стан уявлень щодо основних класів молекул клітинної адгезії - імуноглобулінів, кадгеринів, селектинів та інтегринів. Ретельно розглянуто модулюючу роль плазмінотичного/плазміну у взаємодіях клітина-клітина та клітина-матрикс, тобто узагальнено та систематизовано дані щодо додаткових, не пов'язаних з розщепленням фібрину, функцій основного ферменту фібринолітичної системи. Автором розглянуто та систематизовано дані про асоціативні властивості плазмінотичного/плазміну та опосередкованих ними функціональних процесів за норми та різноманітних патологічних процесів.

Необхідно відмітити високий методичний рівень роботи з застосуванням широкого набору найсучасніших препаративних та дослідницьких методів. Комплексно застосовано методи синтезу олігонуклеотидів, нозерн-блот аналізу, отримання антитіл до протеїнів клітинної адгезії, вестерн блот- та імуноферментного аналізів, різновидів електрофорезу в поліакриламідному гелі, методів афінної хроматографії, ферментативної обробки клітин та білків, цілої низки біохімічних методів для оцінки якості отриманих препаратів та активності ферментів, селективної ферментативної фрагментації білків та визначення впливу останніх на агрегаційні властивості клітин крові, методу проточної цитофлуориметрії. Вибір зазначених методів дослідження є добре обґрунтованим та свідчить про виконання роботи на найсучаснішому рівні. Варто підкреслити власну розробку автором нових методичних підходів.

Внаслідок проведеного дослідження отримано нові дані щодо механізмів перебігу адгезивних процесів досліджуваних клітин. Вперше показано різноспрямованість змін експресії м-РНК, що кодують протеїн N-CAM, під час постнатального розвитку та під час старіння. Отримано нові дані щодо експресії мінорних екзонів у скелетних та серцевих м'язах щурів. Доведено відсутність кореляції між ступенем експресії м-РНК та вираженістю відповідних поліпептидних ізоформ протеїну N-CAM у серцевих та скелетних м'язах. Вперше показано присутність аутоантитіл, що реагують з

поліпептидами мембранної та цитоскелетної фракції протеїнів головного мозку людини за гострої форми шизофренії. Виявлено відміни фракційного розподілу поліпептидів N-CAM в мембранної та в цитоскелетній фракціях. Вперше виявлено класи м-РНК, що забезпечують експресію N-, E- та P-кадгеринів в тканинах головного мозку, печінки, серцевих та скелетних м'язів, нирок та легенів щурів, визначено тканинний розподіл цих кадгеринів. Проведено аналіз поліпептидних ізоформ N-кадгеринового протеїну в постнатальних тканинах щурів. Вперше проведено порівняльний аналіз ролі молекул клітинної адгезії імуноглобулінового сімейства та кадгеринового сімейства в процесах формування пам'яті щурів. Підтверджено ключову роль протеїну N-CAM, тоді як участь кадгеринових протеїнів в цьому процесі виявилась некритичною. Вперше показано різноспрямований вплив Glu- та Lys- форм плазміногену на обумовлені інтегриновими рецепторами адгезивні взаємодії між активованими тромбоцитами, вплив різних форм плазміногену на експонування адгезивного ліганда вітронектина, вплив Lys-плазміногену на цей процес та відсутність впливу нативної Glu-форми. Досліджено вплив форм плазміногену на експонування фосфатидилсерину на поверхні активованих тромбоцитів. Вперше встановлено, що Glu-плазміноген потенціює дію тромбіну та колагену, спрямовану на інтенсифікацію зв'язування екзогенного анексину V тромбоцитами людини, яка обумовлена експонуванням фосфатидилсерину на поверхні цих клітин. Говорячи про участь різних форм та похідних плазміногену в адгезивних взаємодіях, не можна не підкреслити, що ця частина роботи є творчим розвитком досліджень специфічності, локалізації та функціональну роль ділянок міжмолекулярної взаємодії плазміногену/плазміну, що протягом багатьох років ведуться у відділі хімії і біохімії ферментів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України.

Як видно, розглянута робота є істотним внеском в розуміння ролі адгезивних протеїнів у функціонуванні міжклітинних взаємодій та опосередкованих ними фізіологічних та патофізіологічних процесів. При цьому наукові здобутки становлять необхідну основу для розробки методів фармакологічної корекції патологічного тромбоутворення, в першу чергу - за серцево-судинних захворювань.

Статистична обробка отриманих експериментальних даних проведена коректно. Висновки роботи повною мірою відповідають отриманим даним і заперечень не викликають. Матеріали роботи опубліковано в 67 друкованих працях, серед яких 33 статті, з них 22 у наукових фахових виданнях України та 4 статті у закордонних виданнях, 33 тези доповідей на вітчизняних і міжнародних конференціях та з'їздах. Тобто за рівнем

опублікування дисертаційна робота повною мірою відповідає існуючим вимогам.

Варто зазначити, що відповідно до висловлених на попередньому захисті зауважень та побажань, автор істотно переробив як саму дисертацію, так і її реферат. Тож принципових зауважень до роботи немає. Можливі заперечення та зауваження носять дискусійний характер і лише підкреслюють високий науковий рівень роботи. Так, хотілось би отримати розширене пояснення автора щодо того, які, як на його думку, зміни відбуваються з протеїнами клітинної адгезії під час формування пам'яті (або краще сказати сліду пам'яті). В роботі зроблено висновок про можливу участь Lys-плазміногену в запобіганні надмірного тромбогенезу. Чи відомі в науковій літературі приклади використання Lys-плазміногену в якості антитромботичного препарату?

Оцінюючи роботу в цілому, можна робити висновок, що вона є цілісним та завершеним дослідженням, котре істотно поглиблює розуміння ролі та механізмів адгезивних процесів, забезпечуючи тим створення нових підходів до корекції патологічних станів. Вважаю, що розглянута дисертаційна робота є цілісною, закінченою науковою працею, що повною мірою відповідає вимогам п.п. 9, 11, 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 р., № 1159 від 30.12.2015 р. та № 567 від 27.07.2016 р.), що висувуються до докторських дисертацій, а її автор - Жерносеков Дмитро Данилович - заслуговує на присудження наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Офіційний опонент -

завідувач лабораторії біохімії

ДУ «Інститут отоларингології

ім. проф. О.С. Коломійченка НАМН України»

доктор біологічних наук, старший науковий співробітник

В.В. - Верьовка С.В.

Підпис *Верьовки С.В.*
 ЗАСВІДЧУЮ
 Зав. відділом кадрів *Жерносеков Дмитро Данилович*

