

ВІДЗИВ
офіційного опонента



на дисертаційну роботу **Коломієць О. В. «Трансміембранний обмін Ca^{2+} в мітохондріях міометрія за дії оксиду азоту та калікс[4]аренів»**,
представлену на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04. – біохімія

На сьогоднішній день актуальним є пошук та вивчення біохімічних властивостей ендо- та екзогенних речовин, які б спрямовано впливали на активність Ca^{2+} -транспортувальних систем в субклітинних структурах гладеньком'язових клітин, в тому числі і матки. Серед ендогенних сполук значну увагу дослідників привертає оксид азоту, функціональна активність якого в ряді випадків реалізується через модуляцію ним систем транспорту Ca^{2+} в міоцитах; серед екзогенних сполук - калікс[4]арени, що виступають ефективними модуляторами мембранозв'язаних катіон-транспортувальних протеїнів. У зв'язку з цим тема представленої дисертаційної роботи, що спрямована на дослідження трансміембранного обміну Ca^{2+} в мітохондріях міометрія та поляризацію їхньої мембрани за дії оксиду азоту та калікс[4]аренів, є актуальною.

Тема дисертаційної роботи є частиною зареєстрованих фундаментальних наукових досліджень, що проводились у відділі біохімії м'язів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України протягом 2009-2016 років.

Дисертаційна робота виконана за стандартною схемою, викладена на 136 сторінках, список використаних джерел містить 128 посилань, серед яких переважають роботи останніх десятиріч. Роботу ілюстровано 42 рисунками та 1 таблицею. Огляд літератури складається з двох підрозділів, перший з яких присвячено біохімічним механізмам регуляції концентрації Ca^{2+} в гладеньком'язових клітинах, а саме особливостям функціонування систем пасивного та енергозалежного транспорту Ca^{2+} на рівні субклітинних структур, зокрема мітохондрій; у другому підрозділі охарактеризовано ендо- та екзогенні модулятори транспорту Ca^{2+} в гладеньком'язових клітинах – оксид азоту та калікс[4]арени, а також їхню біологічну активність. Зміст автореферату відповідає основним положенням дисертаційної роботи.

За результатами роботи опубліковано 6 статей у фахових наукових журналах. Результати також було апробовано на міжнародних та вітчизняних наукових конференціях, у матеріалах яких надруковано 8 тез доповідей.

Результати досліджень викладено у трьох розділах. Перший розділ присвячено вивченню енергозалежної акумуляції іонів Ca в мітохондріях міометрія та впливу нітросполук на цей процес. Показано, що Ca^{2+} -чутливий флюоресцентний зонд Fluo-4 AM можна успішно використовувати для вивчення закономірностей трансмембранного обміну іонів Ca в ізольованих мітохондріях гладенького м'язу. Також проілюстровано, що існує феномен накопичення Ca^{2+} деенергізованими мітохондріями міометрія. Було показано присутність NO в мітохондріях інтактних міоцитів матки та доведено, що під впливом нітросполук спостерігається посилення енергозалежної акумуляції Ca^{2+} в ізольованих мітохондріях міометрія, при чому стимулювальний ефект опосередковується активацією Ca^{2+} -уніпортера і не залежить від функціонування пори перехідної проникності.

У другому розділі досліджено систему $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -обміну мітохондрій міометрія та вплив нітросполук і вибраних калікс[4]аренів на її активність. Було ідентифіковано $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -обмінник в мітохондріях міометрія щурів, молекулярною основою функціонування якого є протеїн Letm1. Показано, що антипортер працює за фізіологічних значень рН зі стехіометрію 1:1, що вказує на його електрогенність, він є нечутливим до дії нітросполук, але стимулюється калікс[4]аренами C-97, C-99 та амілоридом і пригнічується іонами Mg.

У третьому розділі було вивчено вплив нітросполук та вибраних калікс[4]аренів на поляризацію внутрішньої мембрани мітохондрій міометрія. Показано, що NO викликає помірне зменшення трансмембранного мітохондріального потенціалу в клітинах міометрія, тоді як калікс[4]арени C-97 та C-99 здатні викликати транзієнтну поляризацію мітохондріальної мембрани, що узгоджується із фактом активації ними $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -обмінника.

Результати дисертаційної роботи мають як теоретичне, так і практичне значення. Теоретичне значення полягає в тому, що одержані дані є суттєвими для розуміння біохімічних властивостей систем трансмембранного обміну іонів Ca в мітохондріях гладенького м'язу, участі зазначених субклітинних структур у Ca^{2+} -залежному контролі електро- та фармакомеханічного спряження в клітинах міометрія. У практичному аспекті одержані дані можуть бути корисними для створення селективних регуляторів трансмембранного обміну іонів Ca в мітохондріях гладеньких м'язів.

Але до роботи виникають зауваження та запитання:

1. У вступі при обґрунтуванні актуальності роботи варто було б докладніше описати дані щодо ефекту калікс[4]аренів на гладеньком'язові клітини,

зокрема на транспорт Ca^{2+} , оскільки робота присвячена вивченню впливу саме цих сполук.

2. Огляд літератури перевантажений скороченнями, що ускладнює розуміння описаних даних.
3. У назвах підрозділів експериментальної частини та підписах рисунків слід наводити повну інформацію щодо показника чи процесу, який досліджувався, зокрема, в якому біологічному матеріалі його було визначено і за яких умов. Наприклад, необхідно вказувати, які саме мітохондрії (мітохондрії міокардію миші щурів) було досліджено.
4. Назви деяких рисунків, що відображають експериментальні дані, фактично є висновками, які повинні бути наведені в тексті роботи (наприклад, рис. 3.16 «Одновалентні катіони не впливають на вміст Ca^{2+} в ізольованих мітохондріях», рис 3.6 та ін.). Натомість, у назві слід чітко вказати, який показник було визначено, в якому матеріалі та за яких умов. Так, наприклад рис. 3.13 «Вплив нітросполук на енергозалежний транспорт Ca^{2+} в ізольованій МХ», фактично відображає значення інтенсивності флуоресценції у мітохондріях, навантажених відповідним флуоресцентним зондом, яку вимірювали за присутності нітросполук нітропрусиду натрію та нітриту натрію.
5. У підписах рисунків у розділі «Результати та їх обговорення» не розшифровано, що було контролем.

В роботі є питання, які потребують подальшого обговорення:

1. Потрібно узгодити завдання і висновки роботи. Завданнями є вивчення впливу нітросполук на акумуляцію Ca^{2+} та впливу нітросполук та калікс[4]аренів впливу властивості системи $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ обміну та поляризацію внутрішньої мембрани мітохондрій. Оскільки у висновках йдеться про вплив саме оксиду азоту, а не його донорів, слід конкретизувати, які саме нітросполуки (нітропрусид натрію та нітрит натрію) було застосовано. До того ж, варто було б розширити список завдань, щоб вони були співставними з висновками.

Ці зауваження не знижують наукового рівня дисертаційної роботи. Вважаю, що за актуальністю, методичним рівнем, науковою новизною, теоретичним та практичним значенням, обґрунтованістю висновків дисертаційна робота Коломієць О.В. «Трансмембранний обмін Ca^{2+} в

мітохондріях міометрія за дії оксиду азоту та калікс[4]аренів» відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння звання старшого наукового співробітника», затвердженого відповідною постановою Кабінету міністрів України, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04. – біохімія.

Офіційний опонент
кандидат біологічних наук, доцент,
доцент кафедри біохімії
ННЦ «Інститут біології»
Київського національного університету
імені Тараса Шевченка

Компанець Ірина Володимирівна

Ірина

Підпис доцента Компанець І.В. засвідчую
Заст. директора ННЦ «Інститут біології»



Компанець І.В.