

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Успенської Катерини Романівни «Механізми сигналювання та біологічна роль нікотинових ацетилхолінових рецепторів у мітохондріях», представлену до офіційного захисту на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія

Дисертаційна робота Успенської К.Р. присвячена вирішенню питань, що мають відношення до такого новітнього напрямку медико-біологічної науки, як розкриття первинних молекулярних механізмів розвитку патологій та пошук шляхів запобігання ушкодженню клітин та тканин. Ендогенні механізми, відповідальні за підтримку клітинного гомеостазу або їх порушення, обумовлені багатьма сигнальними системами на субклітинному та міжклітинному рівні. Розуміння цих процесів надає можливість розробки засобів для запобігання ушкодженню клітин і тканин шляхом модуляції механізмів, що забезпечують життєздатність клітин у період так званого «терапевтичного вікна», коли негативні зміни можуть бути оборотними.

Дана дисертаційна робота спрямована на вивчення одного з важливих елементів регуляції функцій збудливих і незбудливих клітин, а саме нікотинових ацетилхолінових рецепторів (nAChR), які традиційно розглядалися як рецептори, що експресуються на поверхні плазматичної мембрани та забезпечують синаптичну передачу. В лабораторії імунології клітинних рецепторів Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України вперше було показано, що функціонально активні nAChR локалізовані також на зовнішній мембрані мітохондрій, де вони приймають участь у регуляції мітохондріального шляху апоптозу через модуляцію активності внутрішньоклітинних кіназ та проникності зовнішньої мембрани мітохондрій. Дисертаційна робота Успенської



продовженням досліджень у цьому напрямку. Отримані нові результати суттєво поглиблюють уявлення про особливості молекулярної будови та функціонування мітохондрійних nAHR мозку та печінки. Вперше показано участь nAHR у підтримці виживання клітин печінки після часткової гепатектомії та патогенний вплив нейрозапалення на експресію та функціонування мітохондрійних nAHR мозку. Дослідження у цьому напрямку є конче сучасними та необхідними.

Виходячи з вищенаведеного, можна сказати, що дана робота безумовно є актуальною і має велике теоретичне та практичне значення.

У дисертаційній роботі виявлені особливості конформаційних змін молекул, що визначають іон-незалежний механізм сигналювання nAHR. Показано, що одним із факторів для формування саме мітохондріальних nAHR є відмінності вуглеводного складу молекули, відносно плазматичних рецепторів.

Використання у дослідженнях мишей, нокаутних за генами $\alpha 7^{-/-}$, $\alpha 3^{-/+}$, $\alpha 7\beta 2^{-/-}$, $\beta 4^{-/-}$ субодиниць nAHR, надало змогу авторів дослідити роль цих субодиниць у активації різних сигнальних шляхів. Така модельна система є найсучаснішою та адекватною для вивчення специфічних механізмів функціонування nAHR, оскільки відокремлює згадані елементи від інших.

У роботі показано, що рівень експресії та склад мітохондрійних nAHR визначає стійкість мітохондрій до дії апоптогенних чинників. Нейрозапалення супроводжується зниженням кількості мітохондрійних nAHR, а часткова гепатектомія призводить до підвищення експресії мітохондрійних nAHR та сприяє виживанню клітин за критичних умов.

Обґрунтування результатів дослідження здійснено з урахуванням існуючих на даний час в літературі уявлень про nAHR. У обзорі літератури наданий широкий огляд інформації про структуру, ліганди і функції nAHR та їх роль при патологіях нервової системи. Розкриті питання щодо будови мітохондрій, мітохондріального шляху апоптозу та

існуючих на теперішній час даних про nАХР в мітохондріях.

Достовірність і обґрунтованість висунутих автором положень не викликає сумнівів. Планування об'єму досліджень здійснено дисертанткою з урахуванням вимог до методів планування наукових досліджень. Експериментальні дослідження виконані на високому науковому рівні із застосуванням сучасних високоінформативних біохімічних методів. Якісно охарактеризований субодиничний склад та склад вуглеводного компонента nАХР. Детально досліджені особливості вивільнення цитохрому c з мітохондрій під впливом різних факторів. Визначення ефективності алостеричних модуляторів для активації nАХР у мітохондріях може бути основою для пошуку нових терапевтичних підходів для підтримки життєздатності клітин при нейродегенеративних захворюваннях та інших патологіях, що супроводжуються активацією процесів апоптозу.

Відносно структури, дисертація відповідає вимогам ВАК України до кандидатських дисертацій. Вона викладена на 163 сторінках і містить вступ, огляд літератури, розділ матеріалів і методів досліджень, розділ результатів та їх обговорення, аналізу і узагальнення результатів дослідження, висновки та список використаних джерел. Робота ілюстрована 43 рисунками та 5 таблицями. Перелік використаної літератури включає 271 посилання вітчизняних та зарубіжних авторів.

В цілому дисертація Успенської К.Р. залишає дуже позитивне враження, це є комплексне дослідження, яке суттєво поширює уявлення про мітохондріальні nАХР та їх біологічну роль.

В процесі ознайомлення з роботою, з'явилося ряд питань дискусійного характеру, які можливо надихнуть автора до подальших досліджень:

1. Питання стосується ефектів імунізації мишей позаклітинним фрагментом (1-208) α 7nАХР. При його введення у мишей суттєво

погіршувалися показники епізодичної пам'яті. Цей вплив перевищував ефекти ЛПС, які асоціюються з запальним процесом. Хотілося б уточнити які механізми можуть бути задіяні в негативних ефектах такої імунізації.

2. Ще одне питання стосується введення мишам $\alpha 7(1-208)$ -специфічних антитіл у комбінації з ЛПС, коли присутність антитіл в певній мірі зменшувала ЛПС-індуковане вивільнення Цит С з мітохондрій, тобто проявлявся антиапоптичний ефект. Які механізми імовірно можуть бути задіяні в цих процесах?
3. Оскільки в обох варіантах впливів на тварин відповідь може опосередковуватися численні додаткові механізмами, можливо було б цікаво в подальшому дослідити прямі ефекти згаданих варіантів безпосередньо на функціональні властивості мітохондрій.

В цілому, результати дисертації Успенської К.Р. мають важливе теоретичне і практичне значення і показують доцільність подальших досліджень у цьому напрямку. Треба відмітити, що робота була підтримана стипендією Федерації Європейських біохімічних товариств та стипендією Президента України.

Дисертаційна робота виконана на достатній кількості фактичного матеріалу, із застосуванням сучасних методів досліджень. Представлені результати достатньо повно ілюстровані виразними рисунками та таблицями. Робота включає обґрунтовані висновки.

За матеріалами дисертації опубліковано 17 наукових праць, з яких 8 статей, з них 7 у міжнародних періодичних фахових наукових виданнях. Основні положення дисертації доповідалися та обговорювалися на багатьох конференціях, в тому числі міжнародних (9 тез доповідей у збірках вітчизняних та міжнародних конференцій).

Таким чином, дисертація Успенської К.Р. є закінченим дослідженням, яке доповнює і поглиблює сучасні уявлення про НАХР та висвітлює певні перспективи у сфері розробки нових протекторних засобів.

На підставі викладеного вище, можна стверджувати, що дисертаційна робота Успенської К.Р. за своєю актуальністю, методичним рівнем, обсягом проведених досліджень, відповідністю висновків отриманим експериментальним даним повністю відповідає п.11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 року №567 зі змінами, внесеними згідно постанови Кабінету Міністрів України №656 від 10.08.2015 року та №1159 від 30.12.2015 року, щодо дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата наук, а автор заслуговує на присудження їй наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Офіційний опонент:

Провідний науковий співробітник
 відділу цитології Інституту фізіології
 ім.О.О.Богомольця НАН України
 канд.біол.наук



Лущікова І.В.

Лушнікова І.В.

