

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

доктора медичних наук, професора, завідувачки кафедри хімії ліків та лікарської токсикології Національного медичного університету ім. О.О.

Богомольця

НІЖЕНКОВСЬКОЇ ІРИНИ ВОЛОДИМИРІВНИ

на дисертаційну роботу аспіранта

Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

ЯВОРОВСЬКОЇ ВІКТОРІЇ ІГОРІВНИ

“Тіакалікс[4]арени – протектори АТР-гідролазної активності міозину міометрія від впливу катіонів важких металів”, представлена до захисту у спеціалізовану вчену раду ДФ 26.240.003

Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, утворену наказом МОН №903 від 11.08.2021 для розгляду та проведення разового захисту дисертації на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія

Актуальність теми дисертації. Дисертаційна робота Яворовської Вікторії Ігорівни присвячена вивченю можливих механізмів протекторної дії нового класу хімічних сполук тіокалікс[4]аренів щодо відновлення активності АТР-гідролази міозину міометрію та функціонування дихального ланцюга мітохондрій відповідних гладеньких м'язів за умов впливу на них таких токсичних сполук, як солі важких металів. Як відомо, важкі метали присутні в компонентах навколошнього середовища, здатні накопичуватися на всіх рівнях екологічної піраміди, що значно посилює проблему, а їх вплив призводить до віддалених небажаних ефектів на організм людини, таких як канцерогенний, мутагенний, токсичний на серцево-судинну, нервову та репродуктивну системи, збільшення ризику беспліддя тощо. Виявляється, що міометрій, як і інші м'язові тканини, є найбільш чутливими до впливу важких металів, оскільки останні можуть конкурувати з такими фізіологічно

важливими для м'язового скорочення катіонами, як Mg і Ca. Отже, пошук і вивчення механізмів дії нових сполук, які б могли попереджати або усувати негативний вплив важких металів на репродуктивну систему жінок є надзвичайно актуальним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота виконувалась у відділі біохімії м'язів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України протягом 2016-2020 рр. у рамках проведення досліджень за держбюджетними темами: “Вивчення біохімічних механізмів спряження, збудження та скорочення в гладеньком'язових клітинах” (ДР №0114U003213 2014-2018 рр) та “Вивчення біохімічних механізмів функціонування гладеньком'язової клітини як Ca^{2+} -захисної тензоелектрохімічної рецепторної системи” (ДР 0119U002508, 2019-2023 рр).

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень та висновків, сформульованих у дисертації. Наукові положення і висновки, представлені в дисертаційній роботі Яворовської Вікторії Ігорівни, є достовірними, підкріпленими достатньою кількістю фактичного матеріалу, статистичним аналізом та узагальненням експериментальних та розрахункових даних.

Результати дисертаційного дослідження є логічним і обґрунтованим продовженням поставлених завдань.

Висновки цілком відображають основні результати роботи.

Наукова новизна одержаних результатів. Дисертаційна робота має безумовну наукову новизну та теоретичне значення. Було показано, що катіони важких металів інгібують АТР-гідролазну активність субфрагменту-1 міозину міометрія. Причому інгібування дія зменшується в ряду $\text{Pb}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Ni}^{2+}$. Крім того, авторкою вперше було встановлено відновлювальний вплив сполуки тіакалікс[4]арену С-800 на АТР-гідролазну активність субфрагмента-1 міозину матки за умов її інгібування катіонами важких металів Cd^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} . За допомогою даних, отриманих комп'ютерним докінгом, було підтверджено, що тіакалікс[4]арени можуть

конкурувати за катіони важких металів на сайтах їх зв'язування з амінокислотними залишками у субфрагменті-1 міозину. Встановлений також вплив катіонів важких металів на енергетичне забезпечення клітин міометрія, а саме показано, що Cd^{2+} , Pb^{2+} порушують функціональну активність сукцинатдегідрогенази та НАДН-дегідрогеназного комплексу мітохондрій клітин гладеньких м'язів матки. За даних умов експерименту тіакалікс[4]арен С-800 сприяє відновленню активності означених ферментних комплексів. Отже, він нівелював патологічні зміни активності дихального ланцюга мітохондрій, при цьому сам практично не впливав на його функціонування.

Встановлено також, що при інкубації ізольованих мітохондрій гладеньких м'язів матки з катіонами важких металів підсилювалась автофлюорисценція НАДН, автофлюорисценція $FA\bar{D}^+$ підсилювалась лише при інкубації з Cd^{2+} .

Крім того, дисертанткою продемонстровано, що флюорисценція тіакалікс[4]арену С-800 є селективною для Zn^{2+} .

Показано також, що дані катіони можуть зв'язуватись за кооперативної участі етокси-фосфонілметильних груп і атомів кисню та сірки нижнього вінця макромолекули досліджуваного тіокаліксарену, чотири етильні залишки, які присутні на верхньому вінці тіакалікс[4]арену С-800 відіграють важливу роль у стабілізації та врівноваженні конформації комплексу С-800 з катіонами Zn .

Результати, отримані в дисертаційній роботі Яворовської В.І., вказують на важливу роль важких металів в модифікації метаболізму і функції гладеньких м'язів міометрію і необхідності коригування даних процесів для виконання нормальної репродуктивної функції останніми.

Практичне значення дисертаційної роботи полягає у з'ясуванні молекулярних механізмів, що лежать в основі порушення скоротливої функції міометрія за умов впливу на нього солей важких металів, що дає можливість перспективного вивчення протекторного впливу специфічних біологічно активних сполук, в тому числі з хелатуючими властивостями,

наприклад каліксаренів, один з яких тіакаліс[4]арен С-800, як продемонструвала дисерантка, є найбільш перспективним і заслуговує на подальше доклінічне і клінічне вивчення.

Крім того, в ході роботи було виявлено селективність флуоресценції даної сполуки для Zn^{2+} і ці властивості дозволяють розглядати її в якості чутливого флуоресцентного зонду для внутрішньоклітинного Zn^{2+} .

Висвітлення результатів у наукових публікаціях. Результати, представлені у дисертаційній роботі опубліковані у 9 наукових публікаціях: 4 статті в іноземних та вітчизняних наукових фахових виданнях, що входять до переліку, затвердженого ДАК України, і 5 тез доповідей у матеріалах міжнародних та вітчизняних конференцій і конгресів. Три публікації представлені в базах даних Scopus, PubMed і Web of Science.

Відсутність (наявність) порушення академічної добросередності. В дисертації відсутні порушення академічної добросередності. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

Структура і обсяг дисертації, оцінка її змісту, завершеності та відповідності вимогам.

Дисертаційна робота Яворовської Вікторії Ігорівни оформлена за формою, яка відповідає вимогам МОН України. Робота викладена на 143 сторінках і складається зі вступу, анотації, огляду літератури, розділу “Матеріали і методи”, результатів та їх обговорення, заключного розділу, висновків та списку літератури, що включає 308 посилань. Робота містить 32 рисунка та 1 таблицю. Робота структурована логічно, що сприяє розкриттю змісту досліджень і виконанню поставлених завдань.

Стиль описання результатів досліджень, наукових положень та висновків забезпечує доступність сприйняття роботи.

У вступі авторкою обґрунтовано вибір теми дисертації, визначено предмет, об'єкт і мету дослідження, сформульовані завдання, охарактеризовані методи дослідження, розкрито суть наукової новизни

дисертаційної роботи, практичне і теоретичне значення отриманих результатів, особистий внесок здобувача, викладено дані щодо апробації та висвітлення матеріалів дослідження у фахових виданнях.

В огляді літератури дисертанткою описані сучасні уялення щодо механізмів м'язевого скорочення клітин міометрію і його регуляції, охарактеризовані відомі факти щодо впливу важких металів на процес скорочення м'язів, в тому числі міометрія, а також особливості реалізації біологічної активності такого класу сполук як каліксарени. Авторкою було проаналізовано велику кількість нових публікацій, що мають безпосереднє відношення до теми дисертаційної роботи.

В розділі “Матеріали і методи дослідження” обґрунтовано вибір і напрямок дослідження. Авторкою охарактеризовано біохімічні методи дослідження, а також методи комп’ютерного моделювання взаємодії лігандів (Pb^{2+} , Cd^{2+} та С-800) з функціональним субфрагментом-1 міозину.

В розділі “Результати та їх обговорення” Яворовською В.І. представлені результати численних досліджень, які характеризуються науковою новизною, а також теоретичним і практичним значенням. В цьому розділі дисертантка частково проаналізувала результати проведених експериментальних і комп’ютерних розрахункових досліджень. В “Заключному розділі” зроблений детальний аналіз отриманих результатів, який логічно підвів до висновків. Висновки до дисертаційної роботи випливають із проведеного дослідження, сформульовані чітко і ясно і цілком відповідають поставленим завданням та повністю ґрунтуються на отриманих результатах.

Наукові положення та висновки, представлені в дисертації Яворовської В.І., є достовірними і підтверджуються великим обсягом експериментального матеріалу та комп’ютерних розрахунків, проведеними за сучасною комп’ютерною програмою, логічністю постановки завдань, статистичним аналізом та узагальненням отриманих даних.

Дисертаційна робота виконана з дотриманням вимог біоетики (протокол №1 комісії з біоетики і біобезпеки Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України від 14.01.2021).

Дисертаційна робота Вікторії Ігорівни заслуговує на позитивну оцінку, але в процесі рецензування дисертації виникли дискусійні питання:

1. Чому для експериментальних досліджень вибір був зупинений саме на таких важких металах як Zn^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} , адже відомо, що Zn відноситься до біометалів, найбільш значимих для репродуктивної системи, входить до складу більше 300 регуляторних металопротеїнів, в той час як Pb^{2+} і Cd^{2+} являються його функціональними антагоністами і мають виразний токсичний вплив на організм?
2. Які, на думку дисертантки, перспективи подальшого розгорнутого доклінічного і клінічного вивчення досліджуваних сполук тіакалікс[4]аренів з урахуванням їхньої здатності хелатувати надзвичайно важливий внутрішньоклітинний катіон Zn ?
3. Чому при досліженні метаболічної активності мітохондрій клітин міометрія, а також продукування активних форм кисню не досліджувався Ni^{2+} ?

Вищенаведені питання і побажання не знижують наукової цінності роботи і її практичного значення.

Висновок. Дисертаційна робота Яворовської Вікторії Ігорівни “Тіакалікс[4]арени – протектори АТР-гідролазної активності міозину міометрія від впливу катіонів важких металів”, представлена на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 “Біологія”, є завершеною науковою працею, що висвітлює молекулярні механізми захисної дії тіакалікс[4]аренів на скорочення міометрію за впливу важких металів. Актуальність і новизна дослідження, теоретичне і практичне значення результатів, наведених в дисертації, високий методичний рівень виконання свідчить про високий науковий рівень дисертанта, а дисертаційна робота

Яворовської Вікторії Ігорівни “Тіакалікс[4]арени – протектори АТР-гідролазної активності міозину міометрія від впливу катіонів важких металів” повністю відповідає вимогам пп. 10,11 “Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії”, затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 06 березня 2019 року, №167, а здобувачка заслуговує на присудження ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 “Біологія”.

Офіційний опонент:

д.мед.н., проф., заслужений
діяч науки і техніки України,
завідувачка кафедри хімії ліків
та лікарської токсикології
Національного медичного університету
ім. О.О. Богомольця

I.V. Ніженковська

Підпись д.мед.н., професора І.В. Ніженковської засвідчує:

Вчений секретар
Національного медичного університету
ім. О.О. Богомольця
к.м.н.



Р.С. Паливода