Рецензія

на дисертаційну роботу Дрюка Миколи Миколайовича

"Нейроактивні забруднювачі навколишнього середовища: мембрано-асоційовані механізми дії та шляхи подолання нейротоксичності",

представленої на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – Біологія, 09 – Біологія.

Актуальність дисертаційної роботи.

Актуальність роботи зумовлена широким поширенням нейродегенеративних та неврологічних захворювань, які є причиною інвалідності і передчасної смерті в ЄС.

Етіологія нейрологічних розладів досі залишається нез'ясованою, а їх зростання часто пов'язане як із забрудненням навколишнього середовища важкими металами, так і забрудненням повітря твердими частинками. Серед важких металів особливу небезпеку становить ртуть, яка здатна порушувати функціонування центральної нервової системи. Молекулярні механізми нейротоксичної дії іонів ртуті в умовах комбінованого впливу з вуглецевими частинками диму нині залишаються недостатньо вивченими, а дослідження молекулярних механізмів їх дії є актуальним.

Перспективною є розробка методичного підходу, який можна застосувати для моніторингу здатності різних наноматеріалів/сполук мати ознаки хелатування Hg^{2+} та знижувати її нейротоксичність в біологічних системах.

Ступінь обґрунтованості наукових положень

У роботі використали поєднання класичних та сучасних біохімічних, фізико-хімічних методів: виділення синаптосом за методом Котмана, визначення вивільнення L-[^{14}C]глутамату та [^{3}H]ГАМК, визначення накопичення L-[^{14}C]глутамату та [^{3}H]ГАМК, визначення мембранного потенціалу та ацидифікації синаптичних везикул флуориметричними

методами. Була оптимізована методологія синтезу препаратів суспендованих у воді вуглецевих частинок диму, а також застосовували агрегометрію. Статистична обробка результатів дозволяє вважати отримані результати достовірними. Представлені у дисертаційній роботі результати та висновки ґрунтуються на якісно та коректно отриманому науковому та експериментальному матеріалі.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота Дрюк Миколи має загальноприйняту структуру та відповідає усім вимогам, а саме включає анотацію українською та англійською мовами 6 стр, перелік тез доповідей на конференціях , зміст, перелік умовних скорочень, вступ, та чотири розділи:

Огляд літератури; матеріали та методи дослідження; результати та їх обговорення; заключна частина та висновки.

Список використаних джерел містить 127 посилань, додаток (Список публікацій за темою дисертації, статті, перелік тез доповідей на конференціях).

Дисертаційна робота викладена на 117 сторінках, містить 15 рисунків та 7 таблиць. Рисунки та таблиці, представлені у дисертації, є чіткими та ілюстративними. Висновки, наведені наприкінці рукопису дисертації, є лаконічними й адекватно відображають отримані результати. В розділі результатів досліджень включені підрозділи, що відповідають напрямкам досліджень, які відповідають головній меті досліджень.

Повнота викладу результатів дисертації в опублікованих працях

Результати дисертаційного дослідження повністю висвітлено у 4 наукових статтях у фахових виданнях, в тому числі 2 статті – у міжнародних наукових виданнях, індексованих міжнародними наукометричними базами даних Scopus та Web of Science: Q1 – 1 стаття, Q1/Q2 – 1 стаття, та 2 статті– у вітчизняних виданнях категорії «Б». Дисертант представив результати виконання дисертаційної роботи в 3 тезах доповідей на наукових

конференціях, серед них на вітчизняній конференції «Актуальні проблеми біохімії та біотехнології», Київ, 2024.

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

Дисертаційна робота відповідає пріоритетним напрямкам розвитку науки в галузі біохімії людини та тварин і була виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт відділу нейрохімії Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України по темі № 3, Державний реєстраційний номер: 0124U000232, «Молекулярні механізми порушення транспортування збуджуючих та гальмівних нейромедіаторів у пресинапсі за умов нейропатологій та шляхи його корегування» (2019-2023), (з 2024); тема № 3, Державний реєстраційний номер: 0119U002509, «Вивчення механізмів регуляції та рецептор-опосередкованої модуляції екзоцитозу та активного транспорту нейромедіаторів у пресинапсі в нормі та за умов, що призводять до розвитку нейропатологій».

Автор дисертації самостійно проводив експериментальні дослідження, здійснив статистичну обробку даних, а також підбір і опрацювання літературних джерел. Планування роботи та аналіз результатів досліджень виконувалися у співпраці з науковим керівником.

Мета і завдання дослідження. Було поставлено ряд завдань по вивченню токсичного комбінованого впливу на нервові терміналі головного мозку. Об'єктом дослідження є система активного транспорту глутамату в пресинаптичних нервових закінченнях (синаптосомах) головного мозку щурів, а предметом дослідження є порушення функціонування транспортерів глутамату за дії Hg^{2+}, механізм розвитку Hg^{2+} - індукованої нейротоксичності та шляхи її подолання. Метою роботи було провести аналіз та встановити молекулярні механізми гострої нейротоксичної дії Hg^{2+} і комбінованого впливу Hg^{2+} та твердих вуглецевих частинок диму на ключові параметри нейропередачі у нервових терміналях головного мозку щурів. Також метою

було розробити оціночний методичний підхід для моніторингу здатності різних частинок/сполук, які б мали ознаки хелатування Hg^{2+} в біологічних системах та впливати на Hg^{2+} -індуковані ефекти у нервових терміналях. З метою вивчення та подолання індукованої нейротоксичності вивчались різні синтезовані та модифіковані наночастинки в якості потенційних адсорбентів/детоксикантів іонів ртуті в біологічних системах.

Основні результати дисертаційної роботи, їхня новизна та практичне значення.

Отримані результати в дисертаційній роботі дозволили встановити деякі молекулярні механізми гострої нейротоксичної дії Hg^{2+} та встановленні нові закономірності нейротоксичності на пресинаптичні нервові закінчення головного мозку та з'ясованні механізми порушення глутаматергічної і ГАМК-ергічної нейропередачі. Вперше показано, що ексайтотоксичне підвищення позаклітинного рівня глутамату за дії Hg^{2+} обумовлене пригніченням функціональної активності транспортерів глутамату, а не пошкодженням плазматичної мембрани чи посиленням тонічного вивільнення нейромедіатора.

Був розроблений підхід, який можна застосувати для моніторингу здатності різних частинок/сполук мати ознаки хелатування Hg^{2+} в біологічних системах та оцінювати перспективність різних наноматеріалів як потенційних адсорбентів цього металу в біологічних системах. Отримані результати розширюють сучасні уявлення про механізми комбінованої нейротоксичності важких металів і твердих частинок, забруднювачів повітря, а також обґрунтовують використання ізольованих нервових терміналей як високочутливої тест-системи для скринінгу біосумісності наноматеріалів та оцінки їхньої здатності до хелатування токсичних металів. Вперше показано, що тверді вуглецеві частинки диму деревини тополі підвищують нестимульоване вивільнення L-[14C]глутамату із синаптосом, а їх

комбінована дія з Hg^{2+} викликає адитивний нейротоксичний ефект щодо накопичення та вивільнення L-[14C]глутамату і [3H]ГАМК.

У дисертаційної роботі показано, що підвищення позаклітинного рівня L-[^{14}C]глутамату, індуковане Hg^{2+}, було результатом Hg^{2+}-опосередкованого послаблення функціонування транспортерів глутамату, але не наслідком Hg^{2+}-індукованого підвищення тонічного вивільнення L-[^{14}C]глутамату з нервових закінчень.

Вперше показано, що карбонові точки, синтезовані з лимонної кислоти/сечовини є біосумісними за концентрації 1 мг/мл та здатні пом'якшували ексайтотоксичне Hg^{2+}-індуковане підвищення позасинаптосомального рівня L-[^{14}C]глутамату на 37%. Встановлено, що лише карбонові точки, синтезовані з лимонної кислоти та сечовини, здатні послаблювати Hg^{2+}-індуковану ексайтотоксичність. Таким чином отримані результати обґрунтовують перспективність застосування карбонових точок, синтезованих з лимонної кислоти та сечовини, як безпечних наноматеріалів для створення сорбентів та детоксикаційних препаратів для видалення іонів ртуті з організму.

Натомість карбонові точки, синтезовані з β-аланіну, наноалмази та карбонові точки синтезовані з зерен кави, не змінюють позаклітинні рівні L-[^{14}C]глутамату та [^{3}H]ГАМК у нервових закінченнях у концентрації 0,01 мг/мл. Показано, що мезопористі наночастинки кремнезему, функціоналізовані групами –SH та -SO_3H не пом'якшували гостру нейротоксичність, індуковану Hg^{2+}, в нервових закінченнях.
Отримані результати свідчать про перспективність використання таких наночастинок як носіїв біологічно активних речовин і лікарських засобів.

Результати дослідження також можуть бути використані під час розроблення нових підходів до оцінки ризиків комбінованого впливу важких металів та вуглецевих частинок диму на нервову систему, а також у дослідженнях з екологічної нейротоксикології, нанобіотехнології та нейрофармакології.

Встановлена висока біосумісність функціоналізованих мезопористих кремнеземних наночастинок свідчить про доцільність їх подальшого використання як наноплатформ для адресної доставки біологічно активних речовин та лікарських засобів. У роботі визначені перспективні наноматеріали для створення безпечних ентеросорбентів та біотехнологічних засобів детоксикації ртуті.

Практичне значення роботи полягає у розробленні експериментального підходу з використанням ізольованих нервових терміналей головного мозку як високочутливої тест-системи для оцінки біосумісності наноматеріалів, їх нейротоксичності та здатності до адсорбції іонів важких металів у біологічних системах. Отримані результати обґрунтовують перспективність застосування карбонових точок, синтезованих з лимонної кислоти та сечовини, як безпечних наноматеріалів для створення сорбентів та детоксикаційних препаратів для видалення ртуті з організму. Встановлена висока біосумісність функціоналізованих мезопористих кремнеземних наночастинок свідчить про доцільність їх подальшого використання як наноплатформ для адресної доставки біологічно активних речовин та лікарських засобів. Результати дослідження також можуть бути використані під час розроблення нових підходів для оцінки ризиків комбінованого впливу важких металів та вуглецевих частинок диму на нервову систему, а також у дослідженнях з екологічної нейротоксикології, нанобіотехнології і нейрофармакології. Проаналізованно дію нових нейроактивних сполук із коригувальною та нейропротекторною дією, які можуть бути використані для розробки нових перспективних фармацевтичних препаратів.

Зауваження

1. В тексті роботи присутні деякі незначні друкарські помилки:

стр. 2 металу – протрібно написати- іону металу // або - металу та іону металу (Hg/Hg^{2+})

не співпадають ключові слова в український та англійській версії, або додані слова, або відсутні:

тверді вуглецеві частинки диму- carbonaceous particulate matter (PM),

вуглецеві тверді частинки (PM) нема диму

мезопористі наночастинки діоксиду кремнію - mesoporous silica nanoparticles, нема діоксиду кремнію

мезопористі наночастинки кремнію, а на 90 стр вони як Мезопористі наночастинки діоксиду кремнію (MSN)

зміст не точний починаючі з 21 сторінки

стр. 15 для активування порохової пороху потрібно -для активування пороху.

Свинець та мідь є основною частиною для (боєприпасах)- боєприпасів

стр. 17 застосування 8 шріфту =14.

стр. 20 Дисертаційна робота викладена на: потрібно виставити точне число- 123 чи інше...

стр. 27. На початку огляду літератури дуже складні речення, які потрібно розбити на декілька частин.

Повтор абзацу із 34 стр на 35 стр: «У людських популяціях оцінка ймовірних факторів навколишнього середовища протягом періоду ризику до прояву захворювання є складною через потенційно тривалий латентний період хвороби (рис. 1.4). Дослідження впливу факторів довкілля на AD та пов'язані з нею деменції часто аналізують впливи на момент появи клінічних симптомів, хоча релевантний вплив міг відбутися за роки або десятиліття до цього або навіть у ранньому віці.»

застосування розриву сторінки призводить до появи або пропаданню трьох сторінок 38 пусто 57(59) та 61 (63). після остаточної правки потрібно перевірити остаточний зміст по сторінках.

стр. 59 (61) препарати о аерозолю-зайве о

стр. 99 чітко , а не читко

стр. 100 замінити - мембранний потенціал на: - зміну мембранного потенціалу.

2. Перелік використаної літератури потребує упорядкуванню відповідно вимогам.

Запитання.

1. Із чим на ваш погляд пов'язана здатність вуглецевих точек, які синтезовані з лимонної кислоти/сечовини, пом'якшувати Hg^{2+}-індуковане підвищення позасинаптосомального рівня L-[^{14}C]глутамату?

2.Чи можна модифікувати поверхню нанодіамантів з метою подолання індукованої нейротоксичності?

3.Чи є перспективним пошук вуглецевих точек з метою подолання індукованої нейротоксичності?

4. Які наноматеріали на ваш погляд є перспективними для створення безпечних ентеросорбентів та біотехнологічних засобів детоксикації іонів ртуті в біологічних системах?

Загальний висновок.

Дисертаційна робота Миколи ДРЮКА «Нейроактивні забруднювачі навколишнього середовища: мембрано-асоційовані механізми дії та шляхи подолання нейротоксичності» є завершеним науковим дослідженням, яке за актуальністю, новизною, об'ємом, методичним рівнем, обґрунтованістю наукових результатів, особистим внеском здобувача, що мають теоретичне та практичне значення і повноцінно відображені в наукових публікаціях, відповідає вимогам Постанови Кабінету Міністрів України «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» від 12.01.2022 р. № 44.

Дисертант Микола ДРЮК може бути представлений до офіційного захисту на здобуття ступеня доктора філософії у галузі знань 09 - Біологія за спеціальністю 091 - Біологія.

Рецензент

старший наук. співроб.

відділу нейрохімії

Інституту біохімії

ім. О.В. Палладіна НАН України

кандидат біологічних наук Микола КАНЮК

Підпис Канюка М. Г.
ЗАСВІДЧУЮ
Зав. канцелярією
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна
національної академії наук України
"17" 08 2026 р.

Національна академія наук України
Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна
Ідентифікаційний код: 05417288
м. Київ