

ВИСНОВОК

наукового керівника к.м.н., наукового співробітника відділу загальної та молекулярної патофізіології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця

Пашевіна Дениса Олександровича

на дисертаційну роботу

Порхало Дениса Федоровича

«Залежні від гіпоксії зміни експресії ізоформ фактору, що індукується гіпоксією, у гіпокампі та медіальній префронтальній корі при моделюванні посттравматичного стресового розладу»

виконану на здобуття ступеня доктора філософії

з галузі знань 09 Біологія

за спеціальністю 091 Біологія

Порхало Д.Ф. у 2021 році закінчив Національний університет «Києво-Могилянська академія» за спеціальністю «091 – Біологія» (освітньо-наукова програма «Лабораторна діагностика біологічних систем») та наступного року вступив до аспірантури Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України у відділ загальної та молекулярної патофізіології. За час роботи у відділі Денис набув значного рівня наукових компетенцій. Опанував методи кількісної ПЛР у реальному часі, поведінкового тестування тварин та моделювання ПТСР за протоколом *single prolonged stress*, самостійно розробив програмне забезпечення для аналізу результатів ПЛР. Також опанував практичні навички ПЛР та *next generation sequencing* у лабораторії CSD Lab (Україна). Окремо варто зазначити високу вмотивованість та проактивність здобувача, здатність до самостійного планування та менеджменту наукових досліджень, ініціативність у пропонуванні нових методичних підходів. Денис самостійно виконав написання статей у міжнародних індексованих журналах та провів значну роботу над правками від рецензентів. Загальний рівень знань та навичок Дениса повністю відповідає восьмому рівню Національної рамки

кваліфікації, та освітньо-наукова програма виконана здобувачем в повному обсязі.

Посттравматичний стресовий розлад (ПТСР) належить до найпоширеніших психічних розладів і формує значний медико-соціальний тягар, особливо в країнах, що переживають збройні конфлікти. В умовах війни в Україні проблема діагностики, профілактики та лікування ПТСР набуває критичної ваги як для військовослужбовців, так і для цивільного населення. Попри наявність валідованих психотерапевтичних і фармакологічних протоколів, значна частина пацієнтів залишається резистентною до лікування, що зумовлює потребу в патогенетично обґрунтованих підходах, які спираються на розуміння молекулярних механізмів розладу. Сучасні дослідження свідчать, що в основі ПТСР лежать порушення нейропластичності, регуляції осі стресу та метаболічної адаптації мозку. Дедалі більше уваги привертає роль гіпоксія-залежних сигнальних шляхів: хронічний психоемоційний стрес супроводжується ознаками тканинної гіпоксії, мітохондріальної дисфункції та окисного стресу, здатних активувати транскрипційні фактори родини HIF. Водночас зміни кисневого гомеостазу за певних умов чинять і протилежний, адаптивний вплив: контрольовані гіпоксичні впливи розглядаються як перспективний нефармакологічний засіб підвищення стійкості організму до екстремальних чинників. Така подвійність ефектів гіпоксії робить критично важливим систематичне порівняння її різних варіантів саме в контексті ПТСР, чого досі не було зроблено в межах єдиного дослідження. Крім того, лишається нез'ясованою роль окремих ізоформ HIF (HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α) та функціонально пов'язаних із ними молекул PACAP і PAI-1, що беруть участь у регуляції дозрівання BDNF і стрес-відповіді. Актуальність дисертаційного дослідження полягає у встановленні ролі факторів, що індукуються гіпоксією, та оцінці ефектів різних моделей гіпоксії на поведінкові й молекулярні маркери ПТСР, що відкриває шлях до розробки патогенетично обґрунтованих підходів корекції цього розладу.

Метою роботи було встановити роль факторів, що індукуються гіпоксією (HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α), та RASAP, PAI-1 у патогенезі ПТСР і оцінити ефекти інтервальної нормобаричної, гіпобаричної та хімічної гіпоксії на поведінкові й молекулярні маркери розладу на моделі single prolonged stress у щурів. Відповідно до мети були сформульовані завдання дисертаційного дослідження: відтворити модель ПТСР шляхом застосування протоколу single prolonged stress (SPS) у щурів-самців і охарактеризувати поведінковий фенотип тварин; визначити базовий рівень експресії HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α , RASAP і PAI-1 у гіпокампі та медіальній префронтальній корі за умов ПТСР; дослідити вплив трьох видів гіпоксії на поведінкові показники тварин з ПТСР та без нього; оцінити вплив зазначених моделей гіпоксії на експресію досліджуваних генів у двох ділянках мозку; проаналізувати молекулярно-поведінкові зв'язки і визначити найбільш ефективний варіант гіпоксії для нормалізації травма-асоційованого фенотипу.

Наукова новизна дисертаційного дослідження є безперечною. Уперше встановлено, що SPS-індукований ПТСР супроводжується регіон-специфічним підвищенням експресії HIF-1 α та HIF-2 α у гіпокампі за відсутності значущих змін у медіальній префронтальній корі, що може вказувати на гіпокамп як основну ділянку гіпоксія-залежної посттравматичної адаптації на транскрипційному рівні. Уперше в межах єдиного експерименту на одній когорті тварин проведено порівняння трьох моделей гіпоксії (ІНТ, Bar, CoCl₂) і обґрунтовано принцип їхньої дії: характер поведінкових і молекулярних наслідків визначається модальністю, інтенсивністю та часовою структурою гіпоксичного стимулу, а не самою лише наявністю гіпоксії. Уперше показано PTSD-селективний анксиолітичний ефект ІНТ, що одночасно найглибше нормалізує експресію HIF-1 α , HIF-3 α і PAI-1 у травмованих тварин, а також виявлено унікальну регіон-специфічну дисоціацію відповіді RASAP і HIF-2 α за умов гіпобаричної гіпоксії.

Практичне значення роботи полягає в обґрунтуванні доцільності подальшої розробки інтервального гіпоксичного тренування як кандидатного нефармакологічного методу корекції травма-асоційованих станів і пропонуванні гіпокампальних HIF-1 α /HIF-2 α як потенційних молекулярних маркерів посттравматичної адаптації. Одержані дані можуть бути використані у навчальному процесі та в подальших доклінічних дослідженнях механізмів стрес-залежної патології.

Здобувач активно залучений до виконання наукових програм: наукова тематика відділу загальної та молекулярної патофізіології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України (№0124U001685 та 0118U007348). За результатами роботи Денис опублікував дві статті у індексованих журналах високого рівня: Porkhalo D. Et. Al. "HIF-1 α and HIF-2 α Are Upregulated in the Hippocampus but Not in the Medial Prefrontal Cortex in Experimental PTSD" у Brain and Behavior та Porkhalo D. et. al. "Mode-Dependent Effects of Chemical, Intermittent, and Hypobaric Hypoxia on HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α , PACAP, and PAI mRNA Expression in the Single Prolonged Stress Model of PTSD" у Frontiers in Neuroscience.

Впродовж навчання в аспірантурі Денис брав участь у інших дослідженнях у рамках тематики відділу, відзначився ініціативністю та готовністю допомагати колегам. Був активно залучений до допомоги у навчанні студентів та підготовки протоколів експериментальних робіт та методичних матеріалів.

Високий рівень роботи Порхало Д.Ф. відзначався на міжнародних конференціях.

Характерними рисами Порхало Д.Ф. є сумлінність та відповідальність у підготовці та проведенні досліджень, логічне мислення та здатність

самостійно ставити та вирішувати актуальні наукові завдання на сучасному методичному рівні. Порхало Денис має врівноважений характер, конструктивно підходить до критики, здатний продуктивно працювати в команді, що значно підвищує ефективність роботи. Дисертант постійно і наполегливо працює над підвищенням рівня професіоналізму та розширенням кругозору.

Денисом опрацьовано значний масив наукових джерел за тематикою дисертаційного дослідження. Отримані результати відповідають сучасним науковим уявленням в галузі досліджень молекулярних механізмів посттравматичного стресового розладу та гіпоксія-залежних шляхів, використано актуальні підходи для математичного і статистичного аналізу результатів. Положення та висновки, отримані автором у процесі дослідження, належним чином аргументовані та науково обґрунтовані. Правдивість сформульованих у дисертації наукових концепцій та висновків ґрунтується на результатах оригінальних експериментальних досліджень, аналіз і обговорення отриманих результатів викладені логічно і послідовно. Матеріали дисертації висвітлені здобувачем у наукових публікаціях у журналах, індексованих у базах Scopus/WoS, та тезах, представлених на конференціях міжнародного рівня. Здобувач безпосередньо брав участь у концептуалізації наукових ідей, проведенні експериментальної роботи, обробці результатів та підготовці до публікації зазначених наукових праць.

Дисертаційна робота повністю відповідає вимогам до оформлення дисертацій, які затверджені наказом МОН України № 40 від 12.01.2017 року зі змінами та доповненнями, внесеними наказом МОН України № 759 від 31.05.2019 року та вимогам Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р.

№44. За досвідом роботи з Денисом переконаний у дотриманні ним найвищих стандартів академічної доброчесності та відсутності їх порушень в рамках роботи над дисертаційним дослідженням, що додатково засвідчується результатами перевірки на академічний плагіат з використанням програми Unicheck.

Засвідчую, що дисертаційна робота Порхало Дениса Федоровича на тему «Залежні від гіпоксії зміни експресії ізоформ фактору, що індукується гіпоксією, у гіпокампі та медіальній префронтальній корі при моделюванні посттравматичного стресового розладу» є повноцінним оригінальним науковим дослідженням. Актуальність обраної тематики та високий рівень виконання відповідають встановленим вимогам до дисертаційних робіт на здобуття ступеня докторів філософії, тому рекомендую роботу до офіційного захисту на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – Біологія.

Науковий керівник:

кандидат медичних наук,

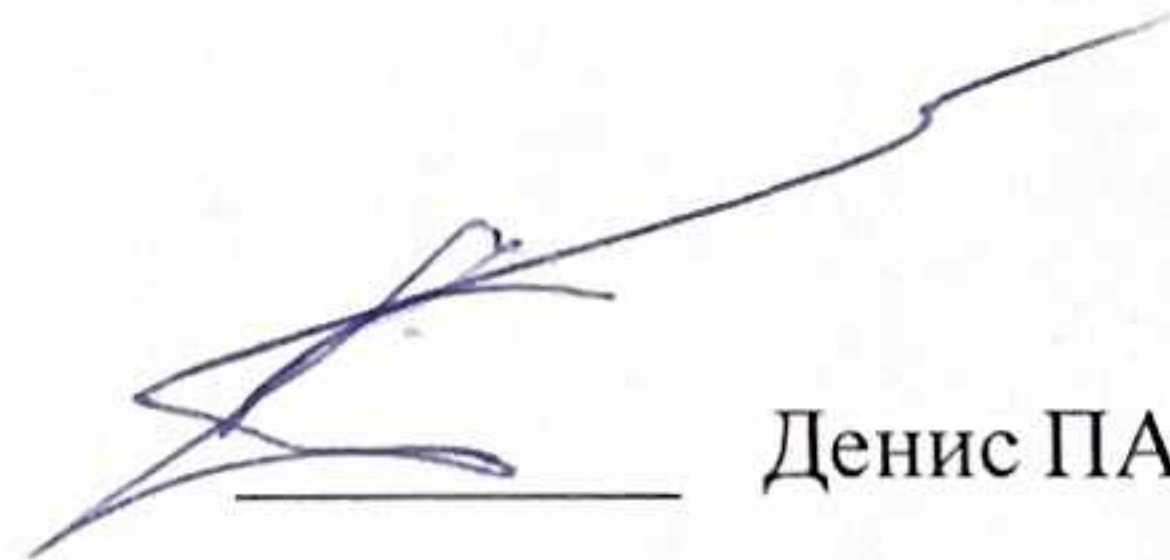
науковий співробітник відділу

загальної та молекулярної

патофізіології

Інституту фізіології

ім. О. О. Богомольця НАН України



Денис ПАШЕВІН

