В І Д Г У К

офіційного опонента на дисертаційну роботу ***Забенько Єлизавети Юріївни*** «Морфофункціональні зміни в головному мозку мишей після повторюваної легкої черепно-мозкової травми та їх корекція корвітином», представлену до захисту на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.13 – фізіологія людини і тварин

Актуальність обраної теми. Дисертаційна робота Забенько Є.Ю. присвячена вирішенню питань, які на сьогодні, виходять на одне із пріоритетних місць в медико-біологічних дослідженнях, метою яких є з'ясування впливу легкої повторюваної черепно-мозкової травми на тонкі структурні зміни мозкової тканини, зокрема гіпокампу як однієї з центральних інтегративних структур мозку. Вкрай важливим є і те, що в роботі проводиться оцінка наслідків черепно-мозкової травми на поведінкові реакції, які є маркерами рівня тривожності, орієнтувально-дослідницької активності та здатності до навчання у тварин, які зазнали повторюваного травматичного ураження мозку. Слід підкреслити і той факт, що, на жаль, в житті сучасної людини повторюване травмування мозку є характерним не лише для бойових дій, різних видів спорту, поширених екстремальних захоплень, а може зустрічатися і в побутових умовах і яке може мати непередбачувані наслідки. Саме тому поєднання оцінки структурних змін та функціональних змін діяльності мозку за умов його повторюваного травмування дозволяє зрозуміти тонкі нейрофізіологічні механізми та процеси, які можуть супроводжувати розвиток складних нейдегенеративних порушень у мозку людини після його травмування. Крім того глибоке розуміння закономірностей розгортання цих процесів дає можливість пошуку нових нейропротективних, протизапальних і антиоксидантних засобів з метою корекції та усунення наслідків повторюваного травмування мозку. Одним

із таких засобів може бути водорозчинний біофлавоноїд корвітин, який здатний справляти системний вплив на різні функціональні системи організму, включаючи і мозок. Однак вплив корвітину як корегуючого засобу на функціонування мозку при його легкому механічному травмуванні дотепер є практично не з'ясованим.

Виходячи з всього викладеного вище, вважаю, що рецензована робота є актуальною, як з точки зору вирішуваних в ній фундаментальних питань, так і практичного застосування її результатів.

Зв'язок роботи з державними науковими програмами. Дисертаційна робота виконана відповідно до загального плану науково-дослідних робіт відділу сенсорної сигналізації Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України в рамках науково-дослідних робіт «Клітинні сигнальні системи в нормі та патології» (2014-2018; номер державної реєстрації – 0113U007273).

Повнота викладення наукових положень, висновків та рекомендацій в опублікованих працях. Основні положення дисертації опубліковані в 12 наукових працях, з них 4 статті у наукових фахових виданнях України, 1 стаття у міжнародному фаховому виданні, 7 тез доповідей у матеріалах наукових конференцій і з'їздів. Обсяг друкованих робіт та їх кількість повністю відповідають вимогам ДАК МОН України щодо публікації основного змісту дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук. Зміст автореферату повністю відповідає основним положенням дисертації.

Наукова новизна досліджень та одержаних результатів. Автором встановлено принципово нові факти, важливі для розвитку сучасних уявлень про структурно-функціональні зміни головного мозку за умов повторюваної легкої черепномозкової травми. Вкрай важливим є те, що рецензована робота заснована на комплексному підході у з'ясуванні як

морфологічних змін, викликаних повторюваною легкою черепномозковою травмою, так і поведінкових реакцій, які характеризують функціонування різних ієрархічних нейромереж головного мозку, починаючи від тих, які забезпечують реакції випрямлення аж до тих, які визначають здатність до контекстуального запам'ятовування і здійснення альтернативних реакцій вибору. Автором вперше встановлено специфічні зміни поведінкових реакцій у відкритому полі у тварин, які зазнали легкої черепномозкової травми та відсутність таких змін в Т-подібному лабіринті. Вперше виявлено, що повторювана легка черепно-мозкова травма призводить до суттєвого збільшення кількості «темних» та електороннощільних нейронів та значно посилює астро- і мікрогліоз в СА1 зоні гіпокампа. Експериментальні дані дозволили з'ясувати, що застосування корвітину здатне у тварин, які зазнали черепномозкової травми, значно зменшувати запальні процеси в мозкові, про що свідчить достовірне зниження у гіпокампі травмованих тварин мікро- та астрогії.

Практичне значення представленої роботи. Результати досліджень автора свідчать не тільки про теоретичну новизну роботи, а і про органічне поєднання цих фундаментальних розробок з перспективою їх подальшого використання в практиці. Вони можуть служити об'єктивним підґрунтям для розробки нових методичних підходів до боротьби з наслідками різних форм черепномозкової травми. Отримані в роботі дані про потенційні можливості корвітину нормалізувати наслідки легкої черепномозкової травми можуть стати основою розробки нових клінічних засобів та технологій в профілактиці віддалених нейродегенеративних порушень, які не лікуються традиційними засобами або зовсім не мають технологій їхньої профілактики.

Зважаючи на те, що результати дослідження значно поглиблюють розуміння процесів, які виникають за умов повторюваної легкої черепномозкової травми, то все це може бути підґрунтям для інноваційних

підходів у комплексній терапії ушкодженого мозку.

Отримані в даній роботі відомості про системні механізми функціонування мозку за умов повторюваної легкої черепномозкової травми заслуговують на використання при читанні загальних та спеціальних курсів для студентів кафедр нормальної і патологічної фізіології медичних університетів та кафедр фізіології людини і тварин класичних університетів.

Відповідність дисертації вимогам ДАК МОН України. Дисертаційна робота Забенько Є.Ю. побудована згідно вимог ДАК МОН України і включає в себе всі відповідні розділи.

Дисертація включає анотацію та перелік праць, опублікованих за матеріалами досліджень, загальну характеристику роботи та чотири розділи, які включають огляд літератури, матеріали та методи дослідження, розділ власних досліджень, аналіз і узагальнення результатів, висновки та список використаних джерел, який містить 195 джерел. Обсяг дисертації становить 133 с. Дисертаційна робота ілюстрована 23 рисунками.

У загальній характеристиці Забенько Є.Ю. обґрунтована актуальність теми дисертації, сформульовано мету, завдання, об'єкт і предмет дослідження, викладені наукова новизна та практичне значення отриманих результатів, наведені дані про особистий внесок, публікації та апробацію результатів дисертації.

Літературний огляд викладено на 21 сторінках машинописного тексту, що не перевищує 20 % обсягу основної частини тексту дисертаційної роботи. Написано літературний огляд з урахуванням сучасних наукових даних. Написаний логічно і послідовно, він свідчить про здатність автора до критичного осмислення і теоретичного узагальнення різнорідних даних. У цьому розділі наведено детальний аналіз сучасних даних щодо впливу механічного ураження головного мозку, детально проаналізовано наявні натепер дані щодо клітинних та молекулярних

реакцій мозкової тканини на дію черепномозкової травми. Зокрема розкрито механізми впливу черепномозкової травми на розвиток доготривалих нейродегенаративних змін та епілепсії. Детально розглянуто переваги і недоліки різних експериментальних методів моделювання черепномозкової травми. В даному розділі особливу увагу приділено використанню біофлавоноїдів зокрема і корвітину як корегуючих факторів при різних формах черепномозкової травми.

Кожний із підрозділів літературного огляду закінчується коротким узагальненням, де вказується на нез'ясовані питання та актуальність їхнього вирішення.

У розділі "Матеріали та методи досліджень" наведено опис схеми експериментів із загальною характеристикою об`єкту дослідження, детальним описом методики отримання повторюваної легкої черепномозкової травми у мишей. Детально описано процедуру використання корвітину. Експериментальні дослідження проведено з використанням поведінкових, морфологічних, гістологічних, електронномікроскопічних та імуногістохімічних методів. Вірогідність отриманих результатів та висновків роботи підтверджуються коректною статистичною обробкою. Доцільність в застосуванні запропонованих методик та підходів не викликає ніякого сумніву.

У розділі «Результати» висвітлено експериментальні дані, отримані в ході проведеного дослідження.

Після повторюваної легкої черепномозкової травми у мишей достовірно зростав час рефлексу випрямляння, що може свідчити про глибоке порушення у таких тварин базових спинальних і стовбурових рефлексів.

Автором встановлено, що у травмованих мишей на п'ятий день рівень локомоторної активності у «Відкритому полі» був достовірно нижчим, ніж у мишей контрольної неанестезованої групи, а тривалість відпочинку

достовірно зростала. Інтенсивність грумінгу у травмованих мишей у цей період теж була достовірно нижчою, а кількість актів дефекації помітно більшою у порівнянні з такою у контрольних анестезованих мишей Що стосується кількості актів дефекації у травмованих мишей, то вона була максимальною на 10-ий день, а на 30-ий день наближалась до показників неанестезованого контролю.

Поведінкове тестування в Т-подібному лабіринті показало деяке зниження кількості альтернативних виборів у мишей після повторюваної легкої черепномозкової травми, хоча таке зниження впродовж всього періоду дослідження не було статистично достовірним.

При повторюваній легкій черепномозковій травмі у мишей не спостерігали переломів черепа, набряку чи крововиливів у головному мозку, однак імуногістохімічні дані засвідчили про розвиток астро- та мікрогліозу. На основі цих даних автори цілком обґрунтовано вказують на те, що навіть легка черепномозкова травма може супроводжуватися запальними процесами в мозкові. Крім цього, було зафіксовано зростання кількості «темних» нейронів у CA1 зоні гіпокампа, а електронномікроскопічне дослідження цієї зони гіпокампа показало зростання там електронноущільнених нейронів.

Поведінкові дослідження травмованих тварин після введення ним корвітину показало, що сама субстанція лише частково змінює поведінкові реакції. Разом з тим, введення корвітину показало, що астро- та мікрогліоз, які почали розиватися після повторюваної легкої мозкової травми, стали значно меншінтенсивними під впливом корвітину. Причому середня кількість іастроцитів, і клітин мікроглії через місяць від початку лікуваннязнаходилася на рівні контрольних значень. Однак гіпертрофія клітин гліїсвідчила про те, що запалення не було усунено остаточно.

В останньому підрозділі автор детально обговорює і узагальнює отримані результати та обґрунтовує висновки роботи. Цей розділ

засвідчує високий фаховий рівень автор та переконує в вагомих наукових здобутках даної роботи. Крім того, узагальнення результатів дослідження дозволило авторові зробити аргументовані висновки. У шести висновках дисертації цілком і повністю відображені основні результати роботи.

Дисертаційна робота Забенько Є.Ю. залишає виключно позитивне враження. Це є комплексне фундаментальнщ-прикладне дослідження, яке розкриває нові аспекти щодо механізмів розвитку механічного ушкодження мозку та пропонує перспективні шляхи нейропротекції.

Недоліки дисертації та автореферату щодо їх змісту та оформлення. При розгляді роботи виникла необхідність зробити ряд зауважень і побажань.

1. В роботі для доведення достовірності різниці використано параметричний критерій Стьюдента, хоча не вказується, яким методом в роботі оцінювалася нормальність розподілу даних.

2. В рамках загальної дискусії хотілося б почути обґрунтування думки автора, про те, що час рефлексу випрямляння свідчить про відновлення свідомості у мишей. Можливо в даному контексті швидше можна говорити про відновлення стовбурових рефлексів чи хоча б про відновлення притомності.

3. Згідно отриманих даних за умов повторюваної легкої черепномозкової травми введення корвітину майже не змінювало поведінкові реакції у «Відкритому полі» і Т-подібному лабіринті, хоча кардинально покращувало морфологічні характеристики досліджуваної зони гіпокампа. З чим це може бути пов'язано, оскільки це не може бути наслідком використання невалідних методик поведінкового тестування наслідків черепномозкової травми, бо таке ж тестування без корвітину такі зміни виявляло?

Зроблені зауваження та поставлені запитання ніяким чином не знижують теоретичної та практичної цінності дисертації.

Висновок. Дисертаційна робота Забенько Є.Ю. «Морфофункціональні зміни в головному мозку мишей після повторюваної легкої черепно-мозкової травми та їх корекція корвітином», яка присвячена вивченню важливої сучасної наукової і практичної проблеми, за своєю актуальністю, обсягом проведених досліджень, їх фундаментальним і прикладним значенням повністю відповідає п.10 «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 її автор цілком заслуговує на присудження їй наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.13 «Фізіологія людини і тварин».

Офіційний опонент:
Завідувач кафедри
фізіології людини і тварин
ННЦ «Інститут біології та медицини»
Київського національного університету
імені Тараса. Шевченка,
докт. біол. наук, професор Макарчук М.Ю.

Підпис проф. Макарчука М.Ю. засвідчую:

Секретар НДЧ
Київського національного університету
імені Тараса Шевченка Караульна Н.В.