

Голові разової спеціалізованої вченої ради ID 7593

Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця

НАН України

доктору біологічних наук, професору,

заступнику директора з наукової роботи,

завідувачу відділу біофізики іонних каналів

Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця

НАН України

Олені ЛУК`ЯНЕЦЬ

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

доцента кафедри гістології та ембріології Національного медичного

університету ім. О. О. Богомольця,

кандидата біологічних наук Савоська Сергія Івановича

на дисертаційну роботу

Нестеренко Юлії Анатоліївни

«Морфофункціональні особливості спонтанного відновлення після

травмування спинного мозку у мишей різної статі»,

представлену на спеціалізовану вчену раду ID 7593 Інституту фізіології ім.

О.О. Богомольця НАН України для розгляду та проведення разового захисту

дисертації на здобуття ступеня доктора філософії у галузі знань 09 «Біологія» за

спеціальністю 091 «Біологія та біохімія»

Актуальність проблематики дисертаційного дослідження

Травма спинного мозку є актуальною науковою та медико-соціальною проблемою. Частота травмувань спинного мозку продовжує зростати через збільшення кількості дорожньо-транспортних пригод і травм внаслідок бойових поранень. Відомо, що пошкодження спинного мозку викликають дисфункцію інших органів, зокрема розлади моторики травного тракту, функції сечового міхура, репродуктивної функції. Тому не виникає сумніву у необхідності

дослідження наслідків травм спинного мозку на інші системи органів. Разом з тим, досі недостатньо вивчені клітинні реакції в травмованому спинному мозку та тканинах соматичних органів, зв'язок між травмою та порушенням функції. З клінічних досліджень відомо про різний ступінь збереження сексуальної функції чоловіків та жінок після травми спинного мозку, еректильних розладів та показників еякуляту чоловіків. Проте такі дослідження обмежуються описом клінічної картини та методів лікування хворих. Експериментальні дослідження можуть дати відповіді на деякі невирішені питання, але існує лише незначна кількість робіт, виконаних на тваринних моделях. Дисертаційна робота Нестеренко Ю.А. присвячена саме цій проблемі.

У дослідженні Нестеренко Ю.А. головна увага була приділена вивченню клітинних реакцій у ділянці травматичного пошкодження спинного мозку і деяких органах видільної та статевої системи лабораторних тварин – мишей лінії *FVB*. Результати дослідження були отримані на загальноприйнятій експериментальній моделі – лівобічний половинний перетин. У роботі продемонстровано результати довготривалого (з 1-го тижня до 12-ти місяців) спостереження та оцінки локомоторної активності і рівня спастичності задньої іпсилатеральної кінцівки самиць та самців мишей з травмою спинного мозку. Для цього у роботі використано дві шкали оцінки функції кінцівки (шкала Basso, Beattie, Bresnahan та шкала Basso) та шкалу оцінки спастичності, що розширило арсенал фізіологічних методів оцінки локомоторної активності тварин у динаміці спостереження і навіть виявити різницю між групами самиць та самців, дослідити кореляцію між моторною активністю та спастичністю.

Важливим розділом дисертаційного дослідження Нестеренко Ю.А. є аналіз клітинних реакцій у ділянці половинного перетину спинного мозку. У роботі здобувачка дослідила появу в пошкодженій тканині спинного мозку реактивних астроцитів та мікрогліоцитів, динаміку цього процесу у формуванні гліального рубця. Гліальний рубець в певній мірі є універсальною, але цікавою і недостатньо вивченою клітинною реакцією у спинному мозку. Чисельні дослідження присвячені цим реакціям і навіть відомі спроби вплинути на

динаміку реактивного астрогліозу. Проте зв'язок формування гліального рубця з статтю тварин досліджувався тільки у поодиноких наукових роботах, тому такі дослідження досі залишаються актуальними.

Не менш актуальним є питання морфофункціональних змін видільної та репродуктивної системи на тлі травми спинного мозку. Експериментальні дослідження дають можливість встановити структурні зміни та виявити клітинні реакції у цих органах, що розширює уявлення про патофізіологію порушень. Тому дослідження цих процесів після травмування спинного мозку без сумніву заслуговує на увагу.

Наукова новизна отриманих результатів, теоретичне та практичне значення

У дисертаційній роботі вперше показано достовірні відмінності показників функції та спастичності задньої іпсилатеральної кінцівки самців і самиць за двома шкалами оцінки моторної функції. Показано негативну кореляцію між показником функції кінцівки та спастичності як характеристику динаміки посттравматичного відновлення моторної активності задньої іпсилатеральної кінцівки тварин. Авторка наводить результати гістологічних досліджень та імуногістохімічного аналізу клітинних реакцій у пошкодженому спинному мозку на довготривалих термінах спостереження – 12 місяців. Проведено аналіз динаміки накопичення клітин, які залучені у розвиток запалення та формування рубця – GFAP- та Iba1-позитивних клітин, показники дегенеративних змін в тканині спинному мозку – MBP та β (III)-тубулін. Виявлено деякі імуногістохімічні відмінності особливостей розвитку цих процесів між самцями та самками.

У роботі здобувачки за допомогою гістологічних методів показано морфологічні зміни в органах видільної і репродуктивної системи тварин: зміни епітелію у нефронах нирки, сечовому міхурі, а також сім'яниках, їх придатках і сім'яних міхурцях самців мишей; деякі ознаки запальної реакції та структурних змін в ендометрії і яєчниках самиць.

Дисертаційна робота Нестеренко Ю.А. в першу чергу має фундаментальне значення, розширюючи уявлення про структурні зміни (а також їх прояв на функціональному рівні) в нервовій тканині та тканинах соматичних органів після травмування спинного мозку як у самців, так і у самиць тварин при довготривалому спостереженні. Водночас, результати, що вказують на відмінності спонтанного відновлення у тварин різної статі можуть бути основою для подальших наукових досліджень з метою вивчення закономірностей порушень фертильності та способів її корекції.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень та висновків дисертаційної роботи

По-перше, варто зауважити, що дисертантка провела ґрунтовний аналіз літературних даних щодо різних типів травм спинного мозку, їх особливостей на структурному рівні, а також функціональних наслідків травм спинного мозку. Нестеренко Ю.А. в роботі наводить аналіз наукової літератури щодо впливу травми спинного мозку на органи видільної і репродуктивної систем тварин.

Вибір гістологічних методів дослідження та статистичної обробки даних обґрунтований, зрозумілий та відповідає поставленим у дисертаційній роботі завданням. Дані щодо рівня моторної активності та рівня спастичності задньої іпсилатеральної кінцівки мишей, отримані в результаті проведених поведінкових тестів, проаналізовані за допомогою правильно підібраних статистичних методів, чітко і зрозуміло описані. Результати дослідження спинного мозку представлені великою кількістю мікрофотографій з позначеннями двох типів гліальних клітин та двох білків нервових волокон. Це вказує на науковий рівень та ретельний аналіз морфологічних змін у пошкодженій ділянці спинного мозку. Гістологічні дослідження органів видільної і репродуктивної систем тварин також ілюстровані великою кількістю мікрофотографій.

Розділ обговорення результатів дослідження коротко поєднує основні заключення роботи з відомими літературними результатами та

спостереженнями. Висновки дисертаційної роботи здобувачки відповідають поставленим у роботі завданням, логічно обґрунтовані та зрозуміло сформульовані.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота здобувачки виконана у відділі фізико-хімічної біології клітинних мембран Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України під керівництвом старшого наукового співробітника, кандидата біологічних наук Рибачук Оксани Андріївни. Робота Нестеренко Ю.А. пов'язана з планами науково-дослідних робіт відділу фізико-хімічної біології клітинних мембран, зокрема, з темою "Молекулярно-генетичні та фармакологічні засоби впливу на клітинні механізми неврологічних розладів" (номер державної реєстрації РК 0118U007343).

Структура, обсяг, зміст та повнота викладення матеріалів дисертаційної роботи

Дисертаційна робота здобувачки виконана та оформлена згідно нових вимог ДАК МОН України (наказ МОН України від 12.01.17 №40). Робота Нестеренко Ю.А. складається із таких розділів: «Вступ», «Огляд літератури», «Матеріали та методи», «Результати досліджень», «Обговорення результатів дослідження», «Висновки» та «Список використаних джерел». Дисертаційна робота здобувачки викладена на 174 сторінках, містить 57 рисунки, 2 таблиці.

Згідно з висновком відділу Наукової інформації, інтелектуальної власності та інноваційної діяльності Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця рукопис дисертантки не містить ознак академічного плагіату.

Викладення матеріалу дисертації у наукових публікаціях

Основні результати дисертації Нестеренко Ю.А. висвітлено у 6 наукових статтях, опублікованих у виданнях, що індексуються в базах даних Scopus/Web of Science; дві статті – у закордонних виданнях, проіндексованих у Scopus/Web

of Science, що належать до 1-го квартилю (Q1) відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank/Journal Citation Reports; та апробовані на п'ятнадцяти українських та міжнародних конференціях.

Питання, дискусійні положення і зауваження до дисертаційної роботи

1. Завдання 2 і 3 доцільно лаконічно сформулювати одним завданням, так як між ними різниця тільки у назві шкали для оцінки функції кінцівки.

2. З якою метою у роботі використано дві шкали оцінки функції кінцівки, якщо їх відмінність тільки у кількості балів?

3. Як можна пояснити кращі результати спонтанного функціонального відновлення моторної активності у самиць порівняно з самцями після травми спинного мозку?

4. У розділі 3.6 не деталізованим є твердження «у самців процес формування і дозрівання рубця тривав довше». Виникає питання про доцільність та наукову цінність кількісної оцінки GFAP-позитивних клітин, астроцитів, маючи високоякісні цифрові зображення. Денситометрія позитивного імуногістохімічного сигналу дала б можливість кількісно оцінити динаміку формування гліального рубця на межі з травмою і дистантний реактивний астрогліоз. Це дає можливість отримати кількісні результати для формування заключення про тривалість формування рубця. Аналогічно динаміку та топографію «довготривалих дегенеративних змін» можна оцінити за зміною сигналів до MBR та β (III)-тубулін.

5. На деяких мікрофотографіях (наприклад, Рис. 3.21-3.24) через їх невеликий розмір важко розрізнити клітини та стрілки, які на їх вказують.

6. На мікрофотографіях зрізів органів видільної і репродуктивної системи тварин (Рис. 3.49, 3.54) помітно артефакти виготовлення зрізів тканин.

7. На рисунку 3.49 Б і Д фото підписане як сечовий міхур, а посилання у розділі на сечівник. Та ж неточність на рисунку 3.52 Є, 3.53 Г. У реченні описується стінка сечового міхура чи сечівника? У матеріалах і методах зразком на дослідження вказано сечовий міхур.

8. У дисертації зустрічається заключення про «застійні зміни або застійні процеси» у сім'яниках та сім'яних пухирцях, проте у матеріалах і методах не описано критерії оцінки, або перелік морфологічних ознак за якими автор класифікувала такі зміни.

9. Відомо, що сім'яні пухирці продукують секрет, який містить фруктозу. Секрет залози є важливим компонентом створення об'єму еякуляту. У роботі зазначено, що в секреті залози виявлено сперматозоїди та клітинний детрит. Виникає питання, яким чином сперматозоїди потрапили до секрету сім'яних пухирців у тварин з травмою спинного мозку?

10. У придатках яєчок автор зустрічала «дебрис еритроцитів». На мікрофотографії з рисунку 3.50 не можливо побачити гемосидерин або еритроцитарну масу. Як можна, хоча б гіпотетично, пояснити появу еритроцитіву просвіті придатків сім'яника щура через 3 місяці після травми спинного мозку? Використане словосполучення «дебрис еритроцитів» потребує термінологічного уточнення.

11. Інший приклад помилок термінології – «містили фолікули та Граафові міхурці». Граафів пухирець, я відомо, є стадіє розвитку третинного фолікула.

12. Чи можна зробити висновок про зміни сперматогенезу у самців після травми спинного мозку у динаміці відновлення локомоторної функції?

13. Відомо, що методи гістохімії, дають можливість виявити та оцінити компоненти секретів екзокринних залоз та окремих клітин (наприклад, мукоцитів). Виникає питання, чи можна було б провести гістохімічне виявлення секрету сім'яних пухирців для дослідження морфофункціональних змін цього органу? Тим більше, імуногістохімічне виявлення маркерів епітеліальних клітин слизової оболонки могло б дати можливість оцінити та пояснити «застійні зміни або застійні процеси» у динаміці.

14. Для більш детального дослідження наслідків травми спинного мозку на структурні особливості органів видільної і репродуктивної систем в подальших дослідженнях варто провести їх морфометричний аналіз.

Висловлені зауваження і запитання носять дискусійний характер, вони не впливають на загалом позитивну оцінку роботи.

Висновок офіційного опонента

Дисертаційна робота Нестеренко Ю.А. «Морфофункціональні особливості спонтанного відновлення після травмування спинного мозку у мишей різної статі», подана на здобуття ступеня доктора філософії повністю відповідає 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, вимогам до опублікування результатів дисертацій на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук, затверджених наказом Міністерства освіти і науки України № 1220 від 23 вересня 2019 року, вимогам щодо оформлення дисертації, затвердженими наказом МОН України № 40 від 12.01.2017 р. та відповідає напряму наукових досліджень освітньо-наукової спеціальності 091 «Біологія та біохімія» третього освітньо-наукового рівня вищої освіти Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. Науковий рівень виконання дисертаційної роботи, новизна роботи, обґрунтованість і володіння методами, представлення та аналіз результатів дисертаційного дослідження, а також їх апробація, вказує на те, що її авторка, Нестеренко Юлія Анатоліївна, заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії у галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія та біохімія».

Офіційний опонент

доцент кафедри гістології та ембріології

Національного медичного університету

імені О.О. Богомольця

кандидат біологічних наук, доцент



Сергій САВОСЬКО