

Голові разової спеціалізованої ради

ID 16993

Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця

НАН України

доктору медичних наук, професору,

члену-кореспонденту НАН України

завідувачці відділу цитології

Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця

НАН України

Скибо Галині Григоріївні

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

доктора біологічних наук, завідувача кафедри біохімії та фізіології

Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара

Севериновської Олени Вікторівни

на дисертаційну роботу

Науменко Яни Олегівни

«Розподіл глутаматного транспортера GLT-1 у гіпокампі мишей після
легкої черепно-мозкової травми та його корекція цефтріаксоном»

виконану на здобуття ступеня доктора філософії

з галузі знань 09 Біологія

за спеціальністю 091 Біологія

Актуальність теми дисертаційної роботи

Дисертаційна робота Науменко Я. О. присвячена дослідженню особливостей розподілу глутаматного транспортера GLT-1 у гіпокампі мишей після легкої черепно-мозкової травми та впливу цефтріаксону на виявлені зміни.

Актуальність обраної теми визначається необхідністю поглиблення уявлень про механізми порушення глутаматного гомеостазу за умов травматичного ушкодження головного мозку. Вивчення цих процесів має значення для розуміння взаємодії нейрональних і гліальних структур у посттравматичному періоді та пошуку можливостей модифікації відповідних змін.

Особливий інтерес становить дослідження не лише інтенсивності GLT-1-імунореактивності, але й просторового розподілу GLT-1-позитивних об'єктів. Такий підхід дозволяє доповнити характеристику посттравматичних змін транспортера оцінкою його організації в досліджуваних ділянках тканини.

Вивчення впливу цефтріаксону на зазначені показники надає роботі додаткового теоретичного значення та створює підґрунтя для подальших експериментальних досліджень. Таким чином, обрана тема відповідає актуальним питанням сучасної фізіології нервової системи.

Наукова новизна отриманих результатів, їх теоретична та практична значущість

Наукову цінність роботи становить кількісна характеристика часових змін площі, інтенсивності та просторового розподілу GLT-1-позитивних об'єктів у зоні CA1 гіпокампа після легкої черепно-мозкової травми.

Інтерес становить аналіз зазначених показників у GFAP-позитивних астроцитарних фрагментах та NeuN-визначених ділянках пірамідного шару. Такий підхід дозволяє зіставити особливості GLT-1-імунореактивності в різних структурних ділянках тканини гіпокампа. Окреме значення має дослідження впливу курсового введення цефтріаксону на посттравматичні зміни досліджуваних показників.

Отримані результати доповнюють уявлення про просторову організацію GLT-1-імунореактивності після травматичного впливу. Вони створюють підґрунтя для подальшого з'ясування зв'язку між морфологічними

характеристиками транспортера, його мембранною локалізацією та функціональною активністю.

Практичне значення отриманих результатів полягає в тому, що вони створюють експериментальне підґрунтя для подальшого вивчення нейропротективного потенціалу цефтріаксону при легкій черепно-мозковій травмі, зокрема його здатності модифікувати посттравматичні зміни просторової організації GLT-1. Запропоновані морфометричні показники можуть бути використані при розробленні доклінічних підходів до оцінювання засобів корекції порушень глутаматного гомеостазу. Важливим є врахування не лише загального рівня GLT-1-імунореактивності, але й особливостей просторового розподілу GLT-1-позитивних об'єктів.

Обґрунтованість та достовірність наукових положень й висновків

Наукове обґрунтування дисертаційної роботи побудовано на поєднанні експериментального моделювання легкої черепно-мозкової травми, імунофлуоресцентного дослідження тканини гіпокампа, конфокальної мікроскопії та кількісного аналізу зображень.

Використання антитіл до GLT-1, GFAP і NeuN дозволяє оцінювати розподіл GLT-1-імунореактивності стосовно досліджуваних астроцитарних структур і ділянок пірамідного шару. Аналіз у різні терміни після травми та за умов введення цефтріаксону відповідає спрямованості роботи на характеристику посттравматичної динаміки зазначених показників.

Позитивним є наведення стандартизованих умов фарбування та отримання конфокальних зображень, використання кількісних показників і спеціалізованого програмного інструменту для обробки даних. Доступність вихідного коду та даних створює можливості для перевірки окремих етапів аналізу.

Обрані методи відповідають завданням морфологічної характеристики GLT-1-імунореактивності. Водночас для повнішої оцінки обґрунтованості

основних положень доцільно уточнити спосіб врахування залежності спостережень від однієї тварини, принцип формування пар для статистичних порівнянь та межі функціональної інтерпретації отриманих результатів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота виконана в рамках науково-дослідних робіт Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України: гранту НАН України (реєстраційний номер 0124U001556).

У межах зазначеної теми авторкою досліджено особливості розподілу GLT-1-імунореактивності в зоні CA1 гіпокампа мишей після легкої черепно-мозкової травми та за умов введення цефтріаксону. За своєю спрямованістю робота стосується вивчення нейрогліальних взаємодій і змін структурної організації компонентів глутаматного гомеостазу при експериментальному ушкодженні головного мозку.

Структура, обсяг та повнота викладення матеріалів дисертаційної роботи

Дисертаційна робота викладена на 160 сторінках, із яких 135 становить основний текст. До її структури входять вступ, чотири розділи, висновки та список використаних джерел, що налічує 136 найменувань. Робота містить 5 рисунків і 4 таблиці.

За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 2 статті у наукових виданнях *Heliyon* (2023) та *Biochemical and Biophysical Research Communications* (2026), що індексуються у наукометричних базах *Scopus* та *Web of Science*. У зазначених працях висвітлено питання розвитку патологічних процесів після легкої черепно-мозкової травми та результати дослідження впливу цефтріаксону на розподіл GLT-1.

Основні результати дисертації представлені та обговорені на трьох наукових конференціях: 13-му Форумі нейронаук FENS (2022), Всеукраїнській конференції з нейронаук з міжнародною участю (Київ, 2022)

та XXI Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених Інституту біології тварин НААН (Львів, 2023). Таким чином, результати дисертаційної роботи опубліковані та пройшли апробацію на вітчизняних і міжнародних наукових заходах.

Зауваження та запитання до дисертаційної роботи

1. Доцільно було б дещо детальніше пояснити, як під час міжгрупових порівнянь враховували належність кількох полів зору до однієї тварини. Застосування критерію Краскела–Уолліса та поправки Холма є описаним у роботі, однак уточнення способу врахування залежності цих спостережень допомогло б повніше оцінити обґрунтованість статистичних висновків. Корисним доповненням могло б стати зіставлення отриманих результатів із результатами аналізу узагальнених показників для кожної тварини.
2. Недостатньо обґрунтовано застосування парного критерію Вілкоксона. Для порівняння часових точок і контрольної групи заявлено парний тест, проте не пояснено принцип формування пар. Якщо гістологічний матеріал у різні терміни отримували від різних тварин, ці вибірки є незалежними. У такому разі необхідно застосувати критерії для непарних порівнянь. Доцільно також уточнити, до яких сукупностей порівнянь застосовували зазначену в роботі поправку Холма.
3. Висновки про нейрональну локалізацію GLT-1 потребують додаткового обґрунтування. За описом методики аналізували сукупний пірамідний шар CA1, межі якого визначали за сигналом NeuN, а не окремі повністю сегментовані нейрони. Наявність GLT-1-позитивних об'єктів у цій ділянці не дозволяє однозначно віднести їх до нейронів, оскільки вона також містить астроцитарні відростки та інші структури нейропілю. Доцільно використовувати формулювання «GLT-1-імунореактивність у NeuN-визначеній ділянці пірамідного шару», якщо клітинну належність не підтверджено незалежним методом.

4. Трактування інтенсивності флуоресценції як рівня експресії GLT-1 є надмірним. У підрозділі 2.8.3 сумарну інтенсивність сигналу в кластері визначено як показник загальної експресії GLT-1 в астроциті. Однак вимірювання охоплює лише сегментований об'єкт, а не весь об'єм клітини та весь пул транспортера. Коректніше характеризувати цей параметр як інтегральну інтенсивність GLT-1-імунореактивності в детектованому об'єкті. Середня інтенсивність також не є прямим вимірюванням молекулярної щільності білка без відповідного калібрування.

5. Авторка зазначає, що аналізували фрагменти астроцитів. Тому отримані показники не слід поширювати на цілу клітину. Крім того, зміни GFAP-сигналу після травми можуть впливати на площу сегментованої ділянки й відповідно на кількість GLT-1-сигналу, включеного в аналіз. Потрібно пояснити, як враховували цей можливий вплив.

6. Доцільно було б дещо уточнити формулювання щодо функціонального значення виявлених змін GLT-1. Отримані морфологічні дані створюють підґрунтя для обговорення можливого перерозподілу транспортера та змін його активності, зокрема під впливом цефтріаксону. Водночас корисно було б виразніше позначити, які положення безпосередньо підтверджені результатами дослідження, а які є їх можливою інтерпретацією та потребують подальшої функціональної перевірки. Відповідне уточнення положень наукової новизни й висновків сприяло б точнішому представленню результатів роботи.

Такі покращення сприятимуть більш глибокому розумінню викладеного матеріалу та підвищать точність представлення результатів роботи.

Проте зазначені недоліки не знижують наукової цінності роботи, не мають принципового характеру та не впливають на загальну позитивну оцінку.

Загальний висновок офіційного опонента

Дисертаційна робота Науменко Я. О. на тему «Розподіл глутаматного транспортера GLT-1 у гіпокампі мишей після легкої черепно-мозкової травми

та його корекція цефтріаксоном» присвячена актуальному науковому питанню сучасної фізіології. Представлені результати доповнюють характеристику посттравматичних змін GLT-1-імунореактивності та мають теоретичне значення для подальшого дослідження механізмів порушення глутаматного гомеостазу.

Дисертаційна робота 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 МОН України від 23 вересня 2019 р. № 1220, вимогам щодо оформлення дисертації, затвердженими наказом МОН України від 12 січня 2017 р. № 40 (зі змінами, внесеними наказом МОН України від 31 травня 2019 р. №759) та відповідає напрямку наукових досліджень освітньо-наукової програми Біологія (Біофізика; Фізіологія людини і тварин; Патологічна фізіологія) третього освітньо-наукового рівня вищої освіти Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України зі спеціальності 091 Біологія.

Офіційний опонент

д.б.н., завідувач

кафедри біохімії та фізіології

Дніпровського національного університету

імені Олеся Гончара



Олена СЕВЕРИНОВСЬКА

Проректор з наукової роботи



Віктор Маринков