

## **ВІДГУК**

**офіційного опонента на дисертаційну роботу**

**Майстренко Анастасії Михайлівни**

**„Участь гіпоксія-індукованого фактору в молекулярних механізмах нейропротекції клітин гіпокампа”, що представлена до захисту на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.13 – фізіологія людини і тварини**

Дисертаційна робота Анастасії Михайлівни Майстренко присвячена вивченню молекулярних механізмів нейропротекції клітин гіпокампа та ролі при цьому транскрипційного фактора HIF, фактора, що індукується за гіпоксії. Протягом останнього десятиліття велика увага приділяється розробці нових підходів до запобігання тяжких уражень за гіпоксичних станів різного генезу, які зустрічаються досить часто, а тому детальне вивчення фундаментальних основ адаптації організму до локальної гіпоксії є важливою частиною фундаментальної фізіології. Модуляція активності HIF1 відкриває нові перспективи для корекції кисневої недостатності на молекулярному та клітинному рівнях, проте його роль у нейропротекції залишається на сьогодні неоднозначною, оскільки є експериментальні дані, що одночасно вказують і на негативний ефект цього транскрипційного фактора. У зв'язку з цим, тема дисертаційної роботи безсумнівно є актуальною як з фундаментальної, так і з прикладної точки зору.

Дисертаційна робота Анастасії Михайлівни має 147 сторінок друкованого тексту і складається із “Вступу”, “Огляду літератури”, опису використаних матеріалів та методів досліджень, а також результатів досліджень і їх обговорення. Робота закінчується висновками і списком використаних літературних джерел, що включає 310 посилань. Робота містить 50 рисунків та 3 таблиці.

У “Вступі” чітко обґрунтована тема дисертаційної роботи та її зв'язок з науковими програмами і темами відділу, сформульована мета і конкретні задачі досліджень, а також наукова новизна одержаних результатів та їх



практичне значення. Розділ “Огляд літератури” охоплює велику кількість літературних даних по темі дисертаційної роботи, причому Анастасія Михайлівна провела не лише детальний аналіз наявних у літературі даних по обраному напрямку наукових досліджень, а і їх узагальнення. Чітко сформульовані питання, що ще не знайшли вирішення на даний момент і обґрунтувала необхідність виконання цієї дисертаційної роботи.

Другий розділ дисертаційної роботи присвячений методам досліджень, що були використані для виконання даної роботи. Варто відмітити, що вони повністю відповідають поставленим задачам. Детально описана робота із тваринами та умови проведення експериментів, методи отримання органотипової культури гіпокампа, моделювання його ішемічного ураження та оцінки життєздатності нейронів різних зон гіпокампа, метод кількісної ПЛР у реальному часі та статистичної обробки результатів.

У розділі „Результати досліджень” Анастасія Михайлівна приводить результати великого за об’ємом експериментального матеріалу. Проведеними дослідженнями вона продемонструвала, що в різних зонах гіпокампа за умов КГД значно знижувалася життєздатність клітин, причому чутливість нейронів СА1 зони до ішемічного ушкодження була значно вищою, ніж у нейронів СА3 зони гіпокампа, що можливо обумовлено порушенням регуляції внутрішньоклітинного кальцію у нейронах цих двох зон гіпокампа. Скільки акумуляція кальцію у внутрішньоклітинних  $\text{Ca}^{2+}$  депо шляхом SERCA-залежного транспорту в ендоплазматичний ретикулум (ЕР) є важливим механізмом підтримання внутрішньоклітинного гомеостазу цього катіону, то Анастасія Михайлівна дослідила вплив КГД на накопичення  $\text{Ca}^{2+}$  в депо ЕР за допомогою кофеїну (10 mM), який активує ріанодинові рецептори мембрани ЕР, і виявила зменшене вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  із ЕР у нейронах СА1 зони після КГД.

Анастасія Михайлівна у своїй дисертаційній роботі вперше продемонструвала наявність експресії мРНК альфа субодиниць HIF-1 та HIF-3 у нейронах СА1 та СА3 зон гіпокампа, причому рівень експресії HIF-1 $\alpha$  був



достовірно вищим у нейронах СА1 зони, ніж у нейронах зони СА3, і вищим ніж рівень експресії HIF-3 $\alpha$  субодиниці. Більше того, рівень експресії HIF-1 $\alpha$  у нейронах СА1 зони достовірно знижувався після проведення КГД.

Результати експериментальних досліджень є достовірними, оскільки вони статистично опрацьовані і ретельно проаналізовані. У зв'язку з вище сказаним, принципових зауважень щодо дисертаційної роботи Анастасії Михайлівни Майстренко не маю, хоча в невеликій кількості наявні орфографічні помилки.

Разом з тим, у процесі роботи над дисертацією виникло декілька дискусійних питань, на які хотілося б почути думку Анастасії Михайлівни:

1) В роботі виявлені зміни в чутливості різних зон гіпокампа до КГД? Які є морфо-функціональні особливості цих зон гіпокампа, що можуть обумовлюють їх різну чутливість до КГД?

2) В якій мірі виявлені зміни в експресії мРНК альфа субодиниць 1 та 3 HIF можуть співпадати з рівнем протеїнів, що ними кодуються, до і після КГД?

3) Яке фізіологічне значення однонаправлених змін в експресії мРНК різних за своєю функцією альфа субодиниць 1 та 3 HIF після КГД?

4) В роботі показано, що зростання рівня експресії генів Ca<sup>2+</sup>-АТФази за стабілізації HIF-1 $\alpha$  може лежати в основі резистентності нейронів СА3 зони гіпокампа до Ca<sup>2+</sup>-індукованої токсичності і опосередковувати виживання СА3 нейронів за ішемічного ураження. А чи змінюється при цьому HIF-3 $\alpha$  і чи впливає вона на виживання СА3 нейронів гіпокампа?

5) КГД є стресом для клітин і зміни в експресії та функції SECRA2 є лише часткою реакції клітин і, зокрема ЕР, на стрес. У зв'язку з цим постає питання про роль інших сенсорно-сигнальних систем стресу ЕР у комплексній реакції клітин на КГД стрес та виживання нейронів?

Поставлені вище запитання не впливають на загальну високу оцінку роботи Анастасії Михайлівни, яка успішно виконала всі наукові завдання для досягнення поставленої мети.



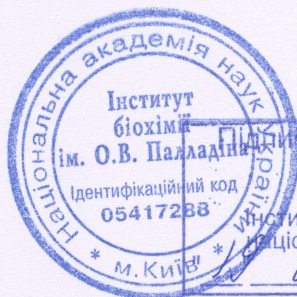
Наукові положення дисертаційної роботи Анастасії Михайлівни і зроблені нею висновки чітко сформульовані у дисертації, досить повно відображені в 6 статтях, які опубліковані у фахових вітчизняних та міжнародних наукових виданнях, та численних тезах доповідей у матеріалах міжнародних і вітчизняних наукових з'їздів та конференцій.

Дисертація оформлена відповідно прийнятим вимогам до кандидатських дисертацій, а зміст автореферату є ідентичним основним її положенням. Важливо відмітити, що результати роботи розширюють сучасні уявлення про фізіологічні механізми селективної чутливості CA1 та CA3 нейронів гіпокампа до ішемічного ушкодження, а також вказують на можливі шляхи нейропротекції цих нейронів.

Вважаю, що дисертаційна робота Майстренко Анастасії Михайлівни „Участь гіпоксія-індукованого фактору в молекулярних механізмах нейропротекції клітин гіпокампа” за актуальністю проблеми, науковою новизною отриманих результатів і можливістю їх практичного використання, а також достовірністю зроблених висновків відповідає вимогам пп. 11, 12 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року № 567, а її автор, Анастасія Михайлівна Майстренко, безумовно заслуговує присудження їй наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – фізіологія людини і тварини.

Офіційний опонент,  
завідувач відділу молекулярної біології  
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна  
Національної академії наук України,  
доктор біологічних наук, професор

*Мінченко* - Мінченко О.Г.



*Михайлова О.З.*  
ЗАСВІДЧУЮ  
Зав. канцелярією  
Інституту біохімії ім. О.В.Палладіна  
Національної академії наук України  
04 2016 р.