

В І Д Г У К

офіційного опонента на дисертаційну роботу Лушнікової Ірини Василівни
«Міжклітинні взаємодії та ендogenousні механізми нейропротекції у
гіпокампі при моделюванні ішемічного пошкодження»
представлену до захисту на здобуття наукового ступеня доктора
біологічних наук за спеціальністю 03.00.13 – фізіологія людини і тварин

Актуальність теми.

Дисертаційна робота Лушнікової І.В. присвячена такому важливому напрямку, як вивчення клітинних і молекулярних механізмів розвитку ішемічного ушкодження клітин гіпокампа та пошуку шляхів ендogenousної нейропротекції. Актуальність цієї роботи не викликає сумнівів, оскільки ішемія мозку залишається однією з поширених причин інвалідизації і смертності у світі, крім того ішемізація тканин супроводжує інші мозкові патології, які мають певні специфічні механізми та прояви. На теперішній час пошуки шляхів нейропротекції, для можливості відновлення функцій чи запобігання загибелі нервових клітин в умовах дефіциту кисню та глюкози, притаманного ішемічному стану, тривають.

Вивчення механізмів, що беруть участь у цих процесах, зокрема обумовлені міжклітинними взаємодіями, викликає великий інтерес. Накопичено багато експериментального матеріалу, щодо ішемічного ушкодження клітин, але у більшості вони орієнтовані на дослідження окремих ланок механізмів, задіяних у розвитку патологій, а їх узагальнення суттєво ускладнено, оскільки умови експериментів та об'єкти значно варіюють. Існує багато суперечливих поглядів та нез'ясованих питань щодо особливостей, механізмів, критеріїв оцінки процесів пошкодження та загибелі нервових клітин при використанні

модельних систем *in vivo* і *in vitro*. Дана дисертаційна робота орієнтована на дослідження саме у цьому напрямку і є вельми актуальною.

Зв'язок теми з державними науковими програмами.

У відділі цитології Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, у якому виконувалася ця дисертаційна робота питання механізмів розвитку ушкодження мозку досліджуються вже довгий час у рамках ряду державних наукових програм, зокрема «Вивчення генетично-детермінованих молекулярних механізмів міжклітинної та внутрішньоклітинної сигналізації в нормі та при патологіях» (№0112U001475), «Механізми внутрішньоклітинної та міжклітинної сигналізації; вивчення шляхів їх модуляції та пошук нових фармакологічних впливів» (№0107U010843), «Дослідження молекулярно-генетичних механізмів фізіологічних та патофізіологічних процесів та розробка методів їх корекції» (№0107U005336), «Клітинні та молекулярні механізми нейродегенерації та шляхи її корекції» (№0113U007273) та «Молекулярні та генетичні механізми клітинної сигналізації в нормі та патології» (№UF45.2/001).

Наукова новизна дослідження та одержаних результатів.

У дисертаційній роботі представлено цілий ряд нових цікавих наукових фактів щодо ролі міжклітинних взаємодій та ендогенних механізмів при ішемічному ушкодженні пірамідних нейронів гіпокампа, зокрема це стосується NCAM- і HIF-опосередкованих механізмів та взаємозв'язку між цими ключовими сигнальними шляхами в умовах киснево-глюкозного дефіциту.

У роботі показано, що ГАМК-ергічні інтернейрони коекспресують GAD67, $\alpha 7$ -nAChRs та Cx36 і певною мірою є резистентними до

киснево-глюкозної дери́вації. Крім того ці інтернейрони мають модулюючий вплив на життєздатність пірамідних нейронів гіпокампа найбільш уразливих до ішемії.

Вперше виявлено, що нейропротекторний вплив аноксичного преко́ндиціонування асоціюється з підвищеним рівнем експресії HIF та стабілізацією роботи Ca-АТФаз (PMCA і SERCA) у нейронах.

Отримані докази того, що синаптичні трансмембранні білки PS1 і Syt1 у результаті їх взаємодії координують ефективність синаптичної передачі.

Практичне значення дисертаційної роботи.

Результати, представлені у дисертаційній роботі мають як фундаментальне, так і практичне значення. Виявлені у дослідженні закономірності та ключові е́ндогенні механізми, задіяні у розвитку ішемічного пошкодження, передбачають можливість використання цієї інформації для формування нових комплексних стратегій для використання відповідних фармакологічних засобів у терапії мозкових порушень. Крім того, продемонстровані нейропротекторні властивості мультипотентних мезенхімальних стромальних стовбурових клітин вказують на можливість їх використання для терапії при ішемічних пошкодженнях тканин мозку.

Окремо можна відмітити, що предствлені у дисертаційній роботі експериментальні модельні системи *in vitro* мають широкі можливості для дослідження механізмів розвитку мозкових патологій та пошуку шляхів нейропротекції.

Достовірність і обґрунтованість висунутих автором положень.

Застосування у дослідженнях модельних систем *in vitro* з використанням культур гіпокампа є адекватними для вивчення

міжклітинних взаємодій, оскільки нейрони в культурі відновлюють свою природну структуру і зв'язки та функціонально наближені до умов *in vivo*. Це надало змогу дисертантці вивчати роль специфічних внутрішньо- та міжклітинних процесів у розвитку початкових та віддалених проявів, викликаних киснево-глюкозною депривацією у гіпокампі, який є найбільш чутливою структурою при ішемії мозку. Експериментальні дослідження виконані із застосуванням сучасних методів досліджень, зокрема морфологічних, біохімічних, електрофізіологічних та молекулярних. Докладно охарактеризовано динаміку змін життєздатності та метаболічної активності різних клітин гіпокампа. Використані автором підходи виявили ендогенні механізми, які можуть підвищити поріг толерантності нервових клітин у несприятливих умовах.

Робота має коректно поставлені завдання і логічні висновки і за структурою відповідає вимогам МОН України до докторських дисертацій. Вона містить анотацію, вступ, огляд літератури, розділ матеріалів і методів, розділ результатів та обговорення результатів дослідження, висновки і список використаних джерел. Робота має велику кількість виразних ілюстрацій, зокрема 105 рисунків і мікрофотографій та 4 таблиці. Перелік використаної літератури включає 347 посилань.

Дисертаційна робота Лушнікової І.В. виконана на достатній кількості фактичного матеріалу, логічно викладена і залишає дуже позитивне враження. При ознайомленні з роботою, виникли ряд зауважень та питань дискусійного характеру:

1. Доцільно підкреслити значення комплексного підходу у дослідженні міжклітинних взаємодій, молекулярних механізмів розвитку ішемічного ушкодження гіпокампа та ендогенної нейропротекції як нового напрямку у пошуку шляхів корекції мозкових порушень.

2. Є необхідність у формуванні чітких протоколів розроблених експериментальних моделей для створення стандартизованих тест-систем і їх можливого упровадження у медичній сфері для тестування засобів нейропротекції.
3. Важливо було б окреслити орієнтовний спектр молекулярних мішеней фармакологічної корекції наслідків ішемії мозку, виходячи з отриманих власних даних.
4. У роботі розглядається модулююча роль $\alpha 7$ -нікотинових ацетилхолінових рецепторів у підтримці життєздатності пірамідних нейронів. Виходячи з ваших досліджень, де саме локалізувалися ці рецептори?
5. Окремо виділяють плазматичні і мітохондріальні нікотинові ацетилхолінові рецептори. Як на вашу думку, наскільки задіяні ті чи інші з цих видів рецепторів при розвитку ішемічного пошкодження гіпокампа?

У цілому, результати роботи Лушнікової І.В. мають важливе теоретичне и практичне значення. Дисертаційна робота є комплексним дослідженням, яке представляє сучасне уявлення про роль міжклітинних взаємодій за умов розвитку ішемічного ушкодження і вказує на доцільність розвитку такого напрямку, як модуляція ендогенних механізмів нейропротекції при мозкових патологіях.

Матеріали дисертації у повному обсязі опубліковані у фахових вітчизняних і закордонних наукових виданнях, зокрема у 22 статтях з яких 11 у високорейтінгових міжнародних журналах. Основні положення дисертації доповідалися на багатьох міжнародних наукових конференціях, з'їздах, симпозіумах. З 2003 року автором опубліковано 30 тезисів доповідей.

Виходячи з вищенаведеного можна стверджувати, що дисертаційна робота Лушнікової І.В. за актуальністю, методичним рівнем, обсягом досліджень, відповідністю висновків поставленим завданням і отриманим результатам 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 доктора наук, а автор заслуговує на присудження їй наукового ступеня за спеціальністю 03.00.13 «Фізіологія людини і тварин».

Офіційний опонент:

Завідувач відділу нейрохімії

Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна

НАН України,

доктор біологічних наук,

професор

Борисова Т.О.

