

В І Д Г У К

офіційного опонента на дисертаційну роботу
Лушнікової Ірини Василівни «**Міжклітинні взаємодії та ендогенні
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 обраної теми дисертаційної роботи визначається важливістю пошуку засобів запобігання розвитку мозкових порушень пов'язаних з недостатнім кровообігом або його припиненням у певних ділянках мозку за умов ішемії та внаслідок призводить до інсульту, який є одним з головних чинників смертності у світі. Велика значущість постінсультної терапії визначається тим, що ця патологія має велику імовірність рецидивів, які можуть стати фатальними. На теперішній час спостерігається стійка тенденція до «омолодження» таких хворих. Мозковий інсульт і постішемічна реперфузія мають результатом численні метаболічні порушення у нервовій тканині, що викликають ураження і втрату нейронів унаслідок ексайтотоксичності, оксидативного стресу та процесів запалення. Дослідження клітинних і молекулярних механізмів розвитку нейродегенерації після ішемії дозволяє встановлювати певні закономірності пошкодження нервових клітин за умов дефіциту кисню і глюкози при порушеннях мозкового кровообігу та здійснювати певну корекцію постінсультних симптомів. Питання, що розглядаються у дисертаційній роботі значною мірою створюють підґрунтя для оптимізації застосування нових перспективних засобів нейропротекції. Дана робота спрямована на вивчення структурно-функціональних змін у різних типах клітин гіпокампа, який вважається найбільш вразливим до ішемії, при киснево-глюкозній депривації у модельних експериментах *in vitro*. Ця тема і комплексний підхід у вирішенні поставлених завдань є безперечно актуальними.

Застосування у дослідженнях технології довгострокового культивування гіпокам্পальних зрізів або дисоційованих клітин, які були експериментальними об'єктами у цій роботі, надало змогу авторові вивчати участь специфічних внутрішньо- і міжклітинних процесів у розвитку початкових та віддалених змін у культурах гіпокампа за умов киснево-глюкозної депривації. Такий підхід є перспективним з точки зору пошуку засобів, які могли б підвищити поріг толерантності нервових клітин у несприятливих умовах. Використані модельні системи є адекватними для вивчення міжклітинних взаємодій, оскільки нейрони в культурі відновлюють свою природну структуру і зв'язки та функціонально наближені до умов *in vivo*. Автором представлені морфологічні та метаболічні особливості розвитку ішемічного ураження тканини гіпокампа з акцентом на найбільш чутливу CA1 зону.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Робота виконувалася дисертанкою у рамках ряду наукових програм, які розроблялися у відділі цитології Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України протягом 2009-2018 рр. та мали широке коло співробітництва з вітчизняними і закордонними науковими лабораторіями. Планування об'єму досліджень здійснено здобувачем з урахуванням сучасних вимог до наукових досліджень.

Наукова новизна.

Формування завдань роботи базується на існуючих на теперішній час уявленнях про основні механізми ушкодження нервових клітин при ішемії, а отримані автором результати суттєво розширюють існуючі погляди на цю наукову проблему. Дисертантом наданий широкий огляд інформації, щодо змін, які відбуваються у тканині гіпокампа в умовах ішемії та ролі у цих процесах нейрональних молекул клітинної адгезії і специфічного індикатора, що активується гіпоксією – транскрипційного фактора HIF. У роботі вперше продемонстровано особливості морфофункціональних змін пірамідних нейронів, інтернейронів, астрогліальних та мікрогліальних клітин гіпокампа та різницю у їх

відповіді на вплив киснево-глюкозної депривації. Детально, з використанням тривимірного реконструювання, охарактеризовано початкові пластичні зміни збудливих і гальмівних синапсів та глії після КГД, коли соми нейронів ще не мають явних ознак ушкодження. Досліджено також ряд міжклітинних і внутрішньоклітинних механізмів, які значною мірою забезпечують життєздатність клітин.

Достовірність і обґрунтованість висунутих автором положень не викликає сумнівів. Експериментальні дослідження виконані із застосуванням великої кількості сучасних високоінформативних морфологічних, біохімічних, електрофізіологічних та молекулярно-генетичних методів. Використання тривимірного реконструювання надало можливість автору оцінити об'ємні показники мікроскопічних структур, зокрема збудливих і гальмівних синапсів CA1 зони гіпокампа. У роботі детально розглядаються структурні перебудови і функціональна активність клітин гіпокампа при моделюванні ішемічного пошкодження та роль міжклітинних взаємодій у підтримці їх життєздатності. Використання імуногістохімічного забарвлення у комбінації з флуоресцентним мітохондріальним зондом дозволило автору охарактеризувати зміни активності мітохондрій у різних клітинах гіпокампа за однакових умов киснево-глюкозної депривації. Автором розглянуто деякі ключові механізми ендогенної нейропротекції та надані переконливі вказівки на перспективні можливості для регуляції процесу розвитку пошкодження нервових клітин, а також показано їх відновлення при використанні мезенхімальних стовбурових клітин.

Виходячи з цього можна сказати, що результати дисертаційної роботи Лушнікової І.В. мають важливе **теоретичне і практичне значення** і вказують на доцільність подальших досліджень у цьому напрямку. Базуючись на одержаних автором результатах, робота має широкі перспективи з точки зору знаходження нових фармакологічних мішеней для розробки інноваційних методів комплексної терапії при ішемічному ушкодженні мозку.

Відносно **структури, дисертація** відповідає вимогам МОН України до докторських дисертацій. Вона викладена на 310 сторінках. Робота містить анотацію, вступ, огляд літератури, розділ матеріалів і методів досліджень, розділ результатів і обговорення результатів дослідження, висновки та список використаних джерел. Робота прекрасно проілюстрована виразними рисунками, мікрофотографіями та таблицями. Перелік використаної літератури налічує 347 посилань. За матеріалами дисертації опубліковано 52 наукові праці, з них 22 статті в українських і закордонних виданнях. Основні положення дисертації доповідалися на багатьох вітчизняних та міжнародних наукових конференціях, з'їздах та симпозіумах.

У цілому дисертаційна робота за науковою новизною, виразністю викладення та практичним значенням справляє добре враження. При ознайомленні з дисертацією виникли декілька **дискусійних зауважень та запитань**:

1. У роботі було б доцільно конкретизувати прикладні аспекти використання отриманих результатів, виходячи з ролі міжклітинних взаємодій та молекулярних механізмів ендогенної нейропротекції при ішемічному ушкодженні гіпокампа.
2. Не зайвим було б окреслити можливості використання нових молекулярних мішеней фармакологічної корекції початкових та віддалених наслідків ішемізації мозку, базуючись на отриманих власних експериментальних результатах.
3. У подальших дослідженнях доцільно більше уваги приділити механізмам взаємодії нейронів з гліальними клітинами, які відіграють важливу роль у функціонуванні мозку.
4. Питання стосовно експериментальної моделі: наскільки варіювали показники змін життєздатності і мітохондріальної активності за умов киснево-глюкозної депривації у режимах, який було використано у ваших дослідженнях?

5. Що вважалося статистичною одиницею у розрахунку показників життєздатності і мітохондріальної активності? Як саме були отримані об'ємні показники синаптичних контактів і що вважалося статистичною одиницею у цьому випадку?

Таким чином, дисертація Лушнікової І.В. є вагомим науковим дослідженням, яке значно розширює сучасні уявлення про роль міжклітинних взаємодій в умовах розвитку ішемічного ушкодження нервової тканини та про ендogenousні механізми нейропротекції.

На підставі викладеного вище можна стверджувати, що дисертаційна робота Лушнікової І.В. за своєю актуальністю, методичним рівнем, обсягом проведених досліджень, відповідністю висновків отриманим експериментальним даним 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 докторських дисертацій, а автор заслуговує на присудження їй наукового ступеня доктора наук за спеціальністю 03.00.13 «Фізіологія людини і тварин».

Офіційний опонент:

Завідувач лабораторії морфології та цитології,
ДУ «Інститут геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова»
НАМН України,
доктор біологічних наук,
професор

Квітницька-Рижова Т.Ю.

