

Голові разової спеціалізованої ради
ID PhD 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 Григорівні

РЕЦЕНЗІЯ

старшого наукового співробітника відділу біофізики іонних каналів
Інституту фізіології імені О.О. Богомольця НАН України,
кандидата біологічних наук **Розумної Наталії Миколаївни**
на дисертаційну роботу

Науменко Яни Олегівни

**«Розподіл глутаматного транспортера GLT-1 у гіпокампі мишей після
легкої черепно-мозкової травми та його корекція цефтріаксоном»**
представлену на спеціалізовану вчену раду ID PhD 16993 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»

Актуальність теми дисертаційної роботи

Черепно-мозкова травма залишається однією з важливих медико-біологічних і соціальних проблем сучасності. Особливої актуальності проблема набуває в умовах воєнних дій в Україні, що супроводжуються зростанням кількості вибухових, бойових, механічних і транспортних травм головного мозку. Незважаючи на відсутність виражених структурних змін за даними стандартної нейровізуалізації, легка ЧМТ (лЧМТ) може спричиняти тривалі когнітивні, емоційні та нейробіологічні порушення, а також підвищувати ризик розвитку нейродегенеративних патологій.

Одним із ключових механізмів вторинного ушкодження мозку після ЧМТ є глутаматна ексайтотоксичність, ознака порушення глутаматного гомеостазу. Важливу роль у його підтриманні відіграє астроцитарний транспортер GLT-1 (EAAT2 у людини). Попередні дослідження переважно оцінювали кількісні зміни рівня GLT-1, тоді як особливості його

просторового перерозподілу та патологічної кластеризації після лЧМТ залишалися недостатньо вивченими.

У цьому контексті дисертаційне дослідження Науменко Яни Олегівни, присвячене вивченню динаміки просторового розподілу та рівня експресії GLT-1 в астроцитах і пірамідних нейронах CA1 зони гіпокампу після легкої дифузної ЧМТ, а також оцінці впливу цефтріаксону на виявлені зміни, є актуальним і своєчасним. Мета роботи сформульована чітко, а поставлені завдання загалом відповідають меті та забезпечують її послідовне розкриття.

Наукова новизна отриманих результатів, їх теоретична та практична значущість

Наукова новизна дисертаційної роботи полягає у встановленні особливостей просторового перерозподілу GLT-1 після легкої черепно-мозкової травми. Авторкою вперше показано, що лЧМТ спричиняє не лише зниження загального рівня GLT-1, а й патологічну кластеризацію транспортера в астроцитах та соматичному відділі пірамідних нейронів CA1 зони гіпокампу. Окремим новим результатом є виявлення та характеристика соматичної локалізації GLT-1 в зоні stratum pyramidale CA1 пірамідних нейронів та встановлення травма-індукованої компактності його кластерів.

Вперше продемонстровано антикластеризаційний ефект цефтріаксону, який пригнічує посттравматичну агрегацію GLT-1 та сприяє відновленню більш рівномірного розподілу транспортера в астроцитах і нейронах. Встановлено часову та клітинно-специфічну динаміку цього ефекту, найбільш вираженого в гострому посттравматичному періоді. Наукову новизну доповнює розроблений авторкою плагін для середовища Npari (Python).

Теоретичне значення роботи полягає у розширенні уявлень про механізми порушення глутаматного гомеостазу після лЧМТ та обґрунтуванні просторової організації GLT-1 як важливого компонента посттравматичної дисфункції глутаматної системи.

Практична значущість дослідження має виражений трансляційний потенціал і визначається кількома напрямками. Здобуті дані обґрунтовують доцільність фармакологічного застосування цефтріаксону та інших молекул, здатних впливати на біосинтез та трафікінг GLT-1, як патогенетично виправданих нейропротекторних агентів для лікування наслідків легкої ЧМТ. Запропонований підхід до аналізу просторового розподілу білків-мембранопереносників створює підґрунтя для розробки нових доклінічних протоколів оцінки ефективності кандидатів у лікарські засоби¹. Крім того, розроблене програмне забезпечення з відкритим вихідним кодом може бути

вільно впроваджене в дослідницьку практику наукових установ для кількісного аналізу флуоресцентних зображень біологічних тканин.

Обґрунтованість та достовірність наукових положень й висновків

Обґрунтованість і достовірність наукових положень дисертації забезпечуються методологічно обґрунтованим експериментальним дизайном, використанням адекватної біологічної моделі та комплексу сучасних методів дослідження. Адекватність моделі підтверджено функціональними та гістологічними показниками, зокрема подовженням часу відновлення рефлексу випрямлення, відсутністю летальності та переломів кісток черепа, а також розвитком реактивного астрогліозу. Методичний арсенал включав транскардіальну перфузійну фіксацію, вібратомну нарізку мозкової тканини, тришарове імунофлуоресцентне маркування NeuN, GFAP та GLT-1, конфокальну лазерну скануючу мікроскопію та напіваавтоматизований кількісний аналіз зображень із використанням авторського плагіна для середовища Napari. Позитивним аспектом є стандартизація умов імунофлуоресцентного фарбування та параметрів конфокального сканування між експериментальними групами.

Основний масив отриманих результатів є достатньо обґрунтованим використаними методами, а висновки сформульовано на репрезентативній вибірці експериментальних даних та належному статистично-математичному опрацюванні результатів із визначенням рівнів значущості.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота виконувалася в межах науково-дослідної діяльності Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України та пов'язана з грантом НАН України, реєстраційний номер **0124U001556**. Таким чином, тематика дисертаційного дослідження відповідає науковому напрямку установи, в якій виконувалася робота, та є складовою відповідної науково-дослідної тематики.

Структура, обсяг та повнота викладення матеріалів дисертаційної роботи

Дисертаційна робота має традиційну та логічно побудовану структуру і складається зі вступу, чотирьох розділів, висновків та списку використаних джерел. Загальний обсяг роботи становить 160 сторінок, з яких 135 сторінок основного тексту. Робота містить 5 рисунків, 4 таблиці, список використаних джерел налічує 136 найменувань.

Основні результати дисертаційної роботи апробовані на 3 наукових конференціях та представлені у 2 наукових статтях опублікованих у виданнях, що індексуються в базах даних Scopus/Web of Science.

Загалом структура дисертації відповідає поставленій меті, матеріал викладено послідовно, а результати дослідження представлені достатньо повно.

Академічна доброчесність

Дисертаційна робота Науменко Я.О. успішно пройшла перевірку на дотримання автором принципів академічної доброчесності.

Зауваження та запитання до дисертаційної роботи

Високо оцінюючи науковий рівень та обсяг виконаної роботи, вважаю за необхідне висловити декілька зауважень і поставити дисертантці запитання дискусійного характеру.

Зауваження:

1. У роботі є обмеженням проведення експериментів виключно на мишах-самцях. Хоча виключення самок обґрунтовується необхідністю нівелювання впливу естрогенового циклу на нейрозапалення та захисні каскади, відомо, що естрогени здатні модулювати експресію GLT-1 через активацію естрогенових рецепторів. Це звужує трансляційну цінність отриманих даних щодо обох статей.
2. Дослідження має переважно морфологічний та імуногістохімічний характер і не містить поведінкових тестів, які дали б можливість зіставити зміни GLT-1 із когнітивним дефіцитом для встановлення зв'язку між виявленими змінами GLT-1 у зоні CA1 гіпокампу та когнітивними порушеннями після лЧМТ.

Запитання до дисертанта:

1. Оскільки застосований протокол імуофлуоресцентного фарбування передбачав пермеабілізацію мембран детергентом Triton X-100, якою є ймовірність того, що виявлена на 3-й день після лЧМТ кластеризація GLT-1 відображає накопичення білка у внутрішньоклітинних ендосомальних або лізосомальних компартментах під час його ендоцитозу, а не агрегацію на плазматичній мембрані?
2. Як ви трактуєте початкову фазу кластеризації GLT-1 у перші години та дні після лЧМТ – як виключно патологічне порушення, що знижує ефективність кліренсу глутамату, чи як первинно адаптивну реакцію клітини, спрямовану на концентрування транспортерів у зонах локального масованого вивільнення медіатора, яка лише згодом переходить у патологічну стадію?

Загальний висновок офіційного опонента

Дисертаційна робота Науменко Яни Олегівни за актуальністю, науковою новизною отриманих результатів, доцільністю використаних методичних підходів, теоретичним та практичним значенням, обсягом виконаних досліджень, змістом та оформленням 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 напряму 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.

Рецензент

старший науковий співробітник
відділу біофізики іонних каналів
Інституту фізіології імені О.О. Богомольця
НАН України
кандидат біологічних наук



Наталія РОЗУМНА

