

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

кандидата біологічних наук, старшого дослідника,

старшого наукового співробітника відділу нейрохімії

Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

Крисанової Наталії Валеріївни

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

Робота Науменко Яни Олегівни «Розподіл глутаматного транспортера GLT-1 у гіпокампі мишей після легкої черепно-мозкової травми та його корекція цефтріаксоном» присвячена дослідженню процесів регуляції

експресії глутаматних транспортерів, робота яких пов'язана з накопиченням нейромедіатора в середині нервових клітин та термінацією його дії в синаптичній щілині. L-глутамат є одним з основних медіаторів збуджуючих сигналів в центральній нервовій системі тварин, в той же час тривале підвищення позаклітинної концентрації нейромедіатору може призвести до розвитку глутаматної нейротоксичності, що виникає внаслідок хронічної надмірної стимуляції рецепторів та призводить до загибелі нейронів. Одже, підтримання позаклітинної концентрації глутамату на низькому рівні є надзвичайно важливим, а оскільки в позаклітинному просторі не існує ферментів деградації глутамату, єдиним шляхом швидкого видалення нейромедіатора з позаклітинної рідини є його поглинання клітинами. Здійснення цього процесу відбувається за рахунок вторинноактивного транспорту за участю високоафінних Na-залежних глутаматних транспортерів, при цьому основну роль у цьому процесі відіграє GLT-1, який забезпечує видалення понад 90% глутамату.

L-глутамат як один з основних збуджуючих нейромедіаторів, відіграє значну роль в реалізації більшості функцій мозку, зокрема в розпізнаванні, навчанні та пам'яті. В той же час характерною рисою багатьох неврологічних та ментальних розладів є порушення в процесах сприйняття, обробки та передачі інформації, які тісно пов'язані з глутаматергічною нейротрансмісією. Порушення гомеостазу глутамату виникають при деяких фізіологічних та патологічних станах, а також при нейротравмах, найпоширенішим типом яких є черепно-мозкова травма (ЧМТ). Так щороку черепно-мозкової травми (ЧМТ) зазнають понад 10 мільйонів людей у світі. У осіб, які перенесли ЧМТ, спостерігаються тривалі когнітивні та афективні наслідки, що супроводжуються зниженням якості життя й продуктивності праці, а також психічними та емоційними розладами. Оскільки випадки легких ЧМТ часто залишаються незареєстрованими, вони можуть бути значною причиною зростання поширеності неврологічних розладів та розглядатися як серйозна проблема охорони здоров'я, що вимагає розробки

та вдосконалення терапевтичних стратегій для покращення нейроповедінкового відновлення та психічного здоров'я. В умовах повномасштабної війни додатковим фактором ризику є мінно-вибухові травми, значна частина яких супроводжується легкими черепно-мозковими травмами, що робить актуальність цієї проблеми в Україні надзвичайно високою.

Центральну роль у патофізіології черепно-мозкової травми відіграє порушення глутаматергічної нейротрансмісії спричинене надмірним викидом глутамату внаслідок механічного пошкодження та змінами його активного транспорту. Сучасні терапевтичні стратегії попередження неврологічних розладів внаслідок черепно-мозкової травми спрямовані на регулювання процесів глутаматергічної нейропередачі, і зокрема роботи транспортерів глутамату, які останнім часом розглядаються як перспективні мішені для фармакологічної корекції. З огляду на зазначене робота Науменко Я.О. «та його корекція ом» присвячена дослідженню розподілу глутаматного транспортера GLT-1 після легкої черепно-мозкової травми та впливу цефтріаксона на цей процес, є безумовно актуальною.

Наукова новизна отриманих результатів, їх теоретична та практична значущість

У дисертаційній роботі представлено цілий ряд нових цікавих наукових фактів щодо перерозподілу глутаматного транспортера GLT-1 в клітинах гіпокампу мишей після легкої черепно-мозкової травми та впливу цефтріаксону на цей розподіл. Зокрема, автором вперше з використанням конфокальної мікроскопії охарактеризовано зниження загального рівня GLT-1 в астроцитах після легкої черепно-мозкової травми та показано кластеризацію молекул транспортеру за цих умов; виявлено GLT-1 в соматичному відділі пірамідних нейронів CA1 зони гіпокампу в умовах легкої черепно-мозкової травми та проведено оцінку його кластеризації.

Вперше продемонстровано, що цефтріаксон не лише підвищує загальний рівень GLT-1, а і пригнічує посттравматичну кластеризацію GLT-1 і сприяє відновленню його рівномірного розподілу як в астроцитах, так і в нейронах. Окремо слід відмітити розроблений протокол для кількісного аналізу зображень на основі Nipari, спеціально призначеним для оцінки просторового розподілу глутаматних транспортерів у конфокальних зображеннях.

Отримані дані дозволяють поглибити розуміння основних клітинних механізмів розвитку посттравматичної ексайтотоксичності після легкої черепно-мозкової травми та молекулярних основ нейропротекторної дії цефтріаксону і тому мають важливе фундаментальне значення. В той же час результати роботи становлять прикладний інтерес, зокрема, застосування багатопараметричного підходу до аналізу молекулярних змін після лЧМТ, що дозволяє отримати більш повну картину змін GLT-1, може бути поширений на дослідження інших мембранних білків, розподіл яких змінюється. Розроблений плагін для Nipari, опублікований у відкритому доступі, може застосовуватись у майбутніх дослідженнях GLT-1 та інших мембранних білків. Також результати роботи, що стосуються вирішення такої актуальної проблеми сучасної медицини, як регуляція процесів глутаматергічної нейропередачі, і зокрема роботи транспортерів глутамату, які останнім часом розглядаються як перспективні мішені для фармакологічної корекції низки неврологічних хвороб та розладів, можуть бути використані при створенні фармакологічних препаратів для попередження та усунення функціональних порушень в нервовій системі.

Обґрунтованість та достовірність наукових положень й висновків

Наукові положення і висновки, що містяться в дисертаційній роботі, є обґрунтованими і логічними, оскільки ґрунтуються на статистично-достовірних результатах сформульовані чітко і ясно та впливають із

результатів досліджень. Результати дисертаційної роботи отримані із використанням сучасних методів з достатньою кількістю експериментальних досліджень та проаналізовані з використанням адекватним методів математичного аналізу, що надає їм достовірного характеру. Об'єм фактичного матеріалу є достатнім для обґрунтування виявлених закономірностей, а логічна побудова роботи, аналіз та статистична обробка даних дозволяють чітко аргументувати основні висновки дисертаційної роботи.

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).

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.

Основні результати, наукові положення та висновки викладені в 5 опублікованих працях, із них 2 статті у міжнародних фахових наукових виданнях, що індексується у наукометричних базах Scopus/Web of Science та віднесених до 1/2-го квартилю (Q1/Q2) відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank / Journal Citation Reports, 1 з яких опублікована в форматі відкритого доступу (Open access). Апробацію результатів засвідчують 3 тез доповідей на конференціях, 1 з яких – за кордоном.

Опубліковані праці свідчать про повноту викладення наукових положень та висновків, сформульованих у дисертації, а їх кількість відповідає вимогам для здобуття ступеня доктора філософії з біології.

Зауваження та запитання до дисертаційної роботи

Загалом дисертація виконана на високому теоретичному й практичному рівні та справляє позитивне враження. В той же час у процесі аналізу дисертаційної роботи виникли окремі дискусійні зауваження та питання:

1. В дизайні дослідження варто навести обґрунтування чому дослідження впливу цефтріаксону у нетравмованих мишей проводили лише на 3 день.
2. За якою формулою проводили перерахунок маси вантажу при моделюванні травми для мишей і чому корекцію проводили на масу тіла тварин?
3. Оскільки існує декілька сплайсингових варіантів GLT-1, які відрізняються С-кінцевими доменами, доцільно навести епітоп для використання в дослідженні анти-GLT-1 антитіл?
4. Наведені результати вказують, що цефтріаксон збільшує кількість GLT-1-молекул як в астроцитах так й у нейронах, при цьому в огляді літератури зазначається, «що ефект цефтріаксону виявляється специфічним для пошкоджених ділянок: у непошкоджених зонах рівень GLT-1 не змінюється, що свідчить про «вирівнювання» кількості транспортерів сприяючи їх більш рівномірному розподілу по клітинній поверхні». Як можна пояснити такі розбіжності?
5. У роботі зазначається, що «основна маса GLT-1-сигналу в нейронах, ймовірно, відповідає транспортеру, що асоційований з перисинаптичними терміналами», таке твердження потребує уточнення, оскільки можна розглядати локалізацію транспортерів як на пресинаптичній так і

постсинаптичній ділянці терміналі, що відповідно належать різним типам клітин. Крім того, слід оцінити вірогідність варіанту розташування транспортерів на перисинаптичних відростках астроцитів.

6. З великою вірогідністю, хоча б частково кластеризація GLT-1 відбувається шляхом ендоцитозу, і відповідно мембранна інкорпорація транспортерів відбувається шляхом екзоцитозу, тому здається доречним розглянути зміни цих процесів при патологіях, аналогічних легкій черепно-мозковій травмі, а також при дії цефтріаксону.

7. У тексті також трапляються друкарські помилки, деякі неточності або невдалі формулювання.

Висловлені питання і зауваження не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи, вони мають лише дискусійний або уточнюючий характер.

Загальний висновок офіційного опонента

Дисертаційна робота Науменко Яни Олегівни «Розподіл глутаматного транспортера GLT-1 у гіпокампі мишей після легкої черепно-мозкової травми та його корекція цефтріаксоном», представлена на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія», є самостійною, оригінальною і завершеною науковою працею, що містить низку важливих наукових результатів, які у сукупності розширюють сучасні уявлення про механізми регулювання процесів глутаматергічної нейротрансмісії, і зокрема роботи транспортерів глутамату. За своєю актуальністю, методичним рівнем, обсягом досліджень, науковою новизною, теоретичним і практичним значенням, об'ємом проведених досліджень та відповідністю висновків поставленим завданням і отриманим результатам 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

кандидат біологічних наук,

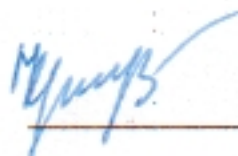
старший дослідник,

старший науковий співробітник

відділу нейрохімії

Інституту біохімії ім.

О.В. Палладіна НАН України



Наталія КРИСАНОВА

