

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

на дисертаційну роботу

Дударенко Марини Володимирівни

«Активний транспорт гамк у нервових терміналях головного мозку щурів за умов перинатальної гіпоксії та його модулювання антиепілептичними сполуками»
подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії
у галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія»

Актуальність проблематики дисертаційного дослідження

ГАМК (γ-аміномасляна кислота) є основним гальмівним нейромедіатором центральної нервової системи, а підтримання її позаклітинної концентрації та ефективності синаптичної передачі значною мірою визначається функціонуванням системи високоафінного транспорту. Порушення роботи ГАМК-транспортерів призводить до змін збудливості нейронних мереж і лежить в основі розвитку багатьох патологічних станів, зокрема епілепсії, наслідків гіпоксично-ішемічного ушкодження головного мозку, когнітивних розладів та окремих нейродегенеративних захворювань. Незважаючи на значний прогрес сучасної нейронауки, молекулярні механізми регуляції активного транспорту ГАМК у різних структурах головного мозку за патологічних умов залишаються вивченими лише частково.

Особливе місце серед таких патологічних станів посідає перинатальна гіпоксія. Саме вона є однією з провідних причин перинатального ураження центральної нервової системи, що асоціюється з підвищеним ризиком виникнення епілепсії, когнітивних порушень, затримки психомоторного розвитку та інших неврологічних розладів у подальшому житті. При цьому значна частина досліджень присвячена переважно змінам нейрональної загибелі, синаптичної пластичності або експресії окремих рецепторів, тоді як функціональні особливості

пресинаптичного транспорту ГАМК після перинатальної гіпоксії, особливо у різних відділах головного мозку, досліджені недостатньо.

Останніми роками дедалі більшої уваги набуває концепція цілеспрямованого фармакологічного впливу не лише на рецепторний апарат ГАМКергічної системи, а й на механізми пресинаптичного транспорту нейромедіатора. Такий підхід відкриває нові можливості для корекції порушеної нейрональної збудливості, однак потребує глибокого розуміння фізіологічних та патофізіологічних механізмів функціонування окремих типів транспортерів ГАМК. Саме тому дослідження, спрямовані на аналіз транспортер-залежного накопичення та вивільнення ГАМК за умов перинатальної гіпоксії, а також оцінку можливостей їх фармакологічного модулювання, є безумовно актуальними.

Важливою перевагою представленої дисертаційної роботи є комплексний характер дослідження. Автор не обмежився аналізом лише наслідків перинатальної гіпоксії, а простежив вікові особливості функціонування ГАМК-транспортної системи у кількох функціонально різних структурах головного мозку, дослідив роль окремих підтипів транспортерів (GAT1 та GAT3), проаналізував вплив низки сучасних антиепілептичних та нейроактивних сполук, а також оцінив можливу нейротоксичність нових наноматеріалів щодо ГАМКергічної нейротрансмісії. Такий багатоплановий підхід дозволяє не лише поглибити фундаментальні знання про механізми регуляції ГАМКергічної передачі, але й визначити перспективні напрями розробки нових засобів фармакологічної корекції неврологічних порушень.

Таким чином, дисертаційна робота Марини Володимирівни Дударенко присвячена вирішенню актуальної проблеми сучасної нейробіології та нейрохімії, а саме встановленню закономірностей функціонування системи активного транспорту ГАМК у пресинаптичних нервових закінченнях головного мозку за умов

перинатальної гіпоксії та пошуку шляхів її фармакологічного модулювання. Отримані результати мають важливе значення як для розвитку фундаментальних уявлень про механізми ГАМКергічної нейротрансмісії, так і для створення наукового підґрунтя розробки нових терапевтичних підходів до лікування неврологічних захворювань.

Наукова новизна отриманих результатів, їх теоретична та практична значимість

Дисертаційна робота М.В. Дударенко є завершеним комплексним дослідженням, у якому отримано нові наукові результати, що суттєво розширюють сучасні уявлення про механізми функціонування пресинаптичної ГАМКергічної системи за умов перинатальної гіпоксії та можливості її фармакологічного модулювання.

Найбільш вагомим науковим досягненням є проведений автором системний аналіз функціонування високоафінної транспортної системи ГАМК у нервових закінченнях кори, гіпокампу та таламусу на різних етапах постнатального розвитку. Вперше показано, що перинатальна гіпоксія викликає регіонально-специфічні зміни транспортер-залежного накопичення ГАМК, а також змінює функціональний внесок окремих субтипів транспортерів GAT1 і GAT3, що відкриває перспективи їх селективного фармакологічного модулювання.

Важливими є результати щодо вікової залежності ефектів леветирацетаму, нових механізмів дії позитивного алостеричного модулятора ГАМКВ-рецепторів *rac-VNFF*, а також дослідження біологічної активності фторовмісних аналогів ГАМК, каліксаренів і наночастинок графену. Отримані дані суттєво поглиблюють сучасні уявлення про пресинаптичні механізми регуляції ГАМКергічної нейротрансмісії та розширюють можливості пошуку нових нейроактивних сполук.

Практична значущість роботи полягає у створенні наукового підґрунтя для розробки нових підходів до фармакологічної корекції наслідків перинатальної гіпоксії, епілептичних станів та інших неврологічних захворювань, пов'язаних із порушенням ГАМКергічної нейротрансмісії. Крім того, результати дослідження можуть бути використані у подальших фундаментальних дослідженнях, а також у навчальному процесі під час викладання нейрохімії, нейрофізіології, молекулярної біології та фармакології.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень й висновків

Наукові положення, висновки та узагальнення, сформульовані у дисертаційній роботі М.В. Дударенко, є достатньо обґрунтованими і не викликають сумнівів щодо їх достовірності. Це забезпечується чіткою постановкою мети та завдань дослідження, логічною побудовою експериментальної роботи, адекватним вибором сучасних методичних підходів та коректною статистичною обробкою отриманих результатів.

Дисертаційне дослідження виконано на високому методичному рівні із застосуванням комплексу взаємодоповнюючих біохімічних і біофізичних методів. Автором використано загальновизнану модель ізольованих нервових закінчень (синаптосом), що є одним із найбільш інформативних експериментальних об'єктів для дослідження пресинаптичних механізмів нейротрансмісії. Для вирішення поставлених завдань застосовано методи виділення синаптосом із різних структур головного мозку, спектрофлуориметричний аналіз мембранного потенціалу та ацидифікації синаптичних везикул, радіоізотопне визначення накопичення і вивільнення [^3H]ГАМК, а також сучасні фармакологічні підходи із використанням селективних інгібіторів та модуляторів ГАМКергічної системи. Сукупність використаних методів повністю відповідає поставленим у роботі завданням і

дозволяє комплексно оцінити функціональний стан пресинаптичної ГАМКергічної передачі.

Важливою перевагою роботи є те, що основні висновки ґрунтуються не на окремих експериментах, а підтверджуються результатами незалежних серій досліджень, проведених на різних структурах головного мозку, у різні вікові періоди та із застосуванням різних фармакологічних підходів. Така внутрішня узгодженість результатів суттєво підвищує їх переконливість.

Позитивної оцінки заслуговує детальний опис експериментальних процедур, що забезпечує відтворюваність проведених досліджень. Статистична обробка результатів виконана коректно із використанням сучасних методів аналізу, а обсяг експериментального матеріалу є достатнім для отримання достовірних висновків.

Високий рівень достовірності результатів підтверджується також їх апробацією у провідних міжнародних фахових виданнях. Основні результати дисертації опубліковані у журналах, що індексуються міжнародними наукометричними базами даних (*Neuroscience*, *Neuroscience Letters*, *Cellular and Molecular Neurobiology*, *Biotechnologia Acta* та ін.), а також представлені на міжнародних і вітчизняних наукових конференціях.

Загалом представлені у дисертації експериментальні дані є достовірними, отримані результати — взаємоузгодженими, а сформульовані автором висновки логічно випливають із наведених матеріалів та повною мірою відповідають поставленій меті і завданням дослідження.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційне дослідження М.В. Дударенко виконано відповідно до основних напрямів наукової діяльності відділу нейрохімії Інституту біохімії ім. О.В.

Палладіна НАН України та безпосередньо пов'язане з виконанням низки фундаментальних науково-дослідних робіт НАН України.

Робота виконувалася в межах планових наукових тем, присвячених дослідженню молекулярних механізмів функціонування клітинних мембран, систем транспорту нейромедіаторів, механізмів міжклітинної сигналізації та пошуку нових біологічно активних сполук, здатних модулювати функціональний стан нервової системи. Тематика дисертації повністю відповідає пріоритетним напрямкам фундаментальних досліджень Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України у галузі нейрохімії та молекулярної нейробиології.

Слід відзначити, що дисертаційна робота не є ізольованим дослідженням, а органічно інтегрована у виконання комплексних фундаментальних проєктів установи. При цьому автором отримано значний обсяг оригінальних результатів, які становлять самостійну наукову цінність і суттєво розширюють наукові результати відповідних державних наукових тем. Це свідчить про особистий вагомий внесок дисертантки у виконання зазначених досліджень.

Таким чином, зв'язок дисертаційної роботи з науковими програмами, планами та темами є безпосереднім, достатньо обґрунтованим і повністю відповідає профілю установи, в якій виконувалося дослідження.

Структура, обсяг та повнота викладення матеріалів дисертаційної роботи

Дисертаційна робота М.В. Дударенко викладена на 159 сторінках друкованого тексту та складається з анотації, вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», розділів власних досліджень та їх обговорення, висновків і списку використаних джерел. Робота ілюстрована 25 рисунками та 4 таблицями. Список використаних джерел містить 222 найменування, що свідчить про

ґрунтовне опрацювання автором сучасної вітчизняної та зарубіжної наукової літератури.

Структура дисертації є чіткою, логічною та повністю відповідає поставленій меті й завданням дослідження. Матеріал викладено послідовно: від аналізу сучасного стану проблеми та обґрунтування методичних підходів до представлення власних результатів, їх всебічного обговорення й узагальнення. Така побудова роботи забезпечує цілісне сприйняття отриманих результатів та демонструє внутрішню логіку проведеного дослідження.

Основні положення дисертації достатньо аргументовані та належним чином проілюстровані. Представлений експериментальний матеріал є достатнім для обґрунтування сформульованих висновків, які логічно випливають із наведених результатів досліджень. Текст дисертації написаний грамотною науковою мовою, характеризується чіткістю викладу та високою культурою наукової аргументації.

У цілому структура, обсяг і повнота викладення матеріалів дисертаційної роботи повною мірою відповідають вимогам, що висуваються до дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії, та забезпечують всебічне висвітлення поставленої наукової проблеми.

У цілому структура дисертації, її обсяг та повнота викладення матеріалу є достатніми для всебічного висвітлення поставленої наукової проблеми, а побудова роботи забезпечує послідовне розкриття змісту проведеного дослідження.

Питання, дискусійні положення і зауваження до дисертаційної роботи

Дисертаційна робота справляє дуже позитивне враження, є завершеним науковим дослідженням і не містить принципових недоліків, які могли б поставити під сумнів достовірність отриманих результатів чи обґрунтованість висновків. Водночас окремі положення роботи потребують додаткового обговорення.

1. Одним із найцікавіших результатів роботи є встановлення різноспрямованих змін транспортер-залежного накопичення ГАМК у корі, гіпокампі та таламусі після перинатальної гіпоксії, а також припущення про зміну співвідношення транспортерів GAT1/GAT3 як одного з можливих механізмів цих ефектів. Разом з тим було б цікаво почути думку дисертантки, чи планує вона в подальших дослідженнях підтвердити це припущення за допомогою визначення експресії або локалізації транспортерів GAT1 і GAT3 молекулярно-біологічними чи імуногістохімічними методами.
2. У роботі продемонстровано вікову та регіональну специфічність ефектів леветирацетаму, а також їх посилення за умов перинатальної гіпоксії. На мою думку, заслуговує на обговорення питання, які саме молекулярні механізми можуть лежати в основі підвищеної чутливості нервових терміналей до леветирацетаму після перенесеної гіпоксії та чи можна очікувати аналогічні зміни в інших моделях гіпоксичного ушкодження мозку.
3. Основні експерименти виконані на ізольованих нервових закінченнях (синаптосомах), що є однією з найінформативніших моделей для дослідження пресинаптичних механізмів нейротрансмісії. Водночас хотілося б почути думку авторки щодо того, якою мірою виявлені зміни можуть залежати від взаємодії нейронів із гліальними клітинами та іншими компонентами нейрональних мереж, які відсутні в ізольованих синаптосомах.

До окремих зауважень можна віднести таке.

- У дисертації розглянуто декілька перспективних напрямків фармакологічного модулювання ГАМКергічної нейротрансмісії (леветирацетам, гас-BHFF, фторовмісні аналоги ГАМК, каліксарени, графенові наночастинки). Це суттєво розширює наукову цінність роботи, однак дещо ускладнює її композиційне сприйняття, оскільки окремі розділи мають різний ступінь деталізації.

- У розділі обговорення результатів доцільно було б ширше зіставити отримані дані із сучасними уявленнями про роль ГАМК-транспортерів у розвитку гіпоксичного ушкодження мозку та детальніше висвітлити можливі механізми регіональної специфічності виявлених змін.

Наведені питання та зауваження мають переважно дискусійний характер і жодним чином не знижують високої наукової цінності дисертаційної роботи, її теоретичного та практичного значення.

Висновок офіційного опонента

Дисертаційна робота Дударенко Марини Володимирівни на тему «Активний транспорт ГАМК у нервових терміналях головного мозку щурів за умов перинатальної гіпоксії та його модулювання антиепілептичними сполуками» є самостійно виконаним, завершеним та оригінальним науковим дослідженням, присвяченим вирішенню актуальної наукової проблеми сучасної нейробіології та біохімії – встановленню механізмів порушення ГАМКергічної нейротрансмісії за умов перинатальної гіпоксії та пошуку шляхів її фармакологічної корекції. У роботі отримано нові науково обґрунтовані результати, що мають важливе фундаментальне значення для розвитку сучасної нейрохімії та нейрофармакології, а також становлять практичний інтерес для розроблення нових підходів до лікування неврологічних захворювань, асоційованих із порушенням гальмівної нейротрансмісії.

Дисертаційна робота характеризується високим методичним рівнем, логічною структурою, належною обґрунтованістю висновків та достатнім обсягом експериментального матеріалу. Отримані результати є достовірними, апробовані у фахових міжнародних та вітчизняних наукових виданнях, а сформульовані висновки повністю відповідають поставленій меті та завданням дослідження.

Зауваження, висловлені у цьому відгуку, мають переважно дискусійний характер і не знижують загальної високої оцінки дисертаційної роботи.

За актуальністю, науковою новизною, теоретичним і практичним значенням, методичним рівнем виконання та обсягом отриманих результатів дисертаційна робота Дударенко Марини Володимирівни «Активний транспорт ГАМК у нервових терміналях головного мозку щурів за умов перинатальної гіпоксії та його модулювання антиепілептичними сполуками» 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 року № 44 (зі змінами), а також Вимогам до оформлення дисертації, затвердженим наказом Міністерства освіти і науки України від 12.01.2017 № 40 (зі змінами).

Вважаю, що Дударенко Марина Володимирівна заслуговує на присудження ступеня доктора філософії у галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

Офіційний опонент

Войтенко Нана Володимирівна

доктор біологічних наук, професор,
ректор Приватного закладу вищої освіти
«Академія Добробут»,
Заслужений діяч науки і техніки України



Н.В. Войтенко