

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу

Марини ДУДАРЕНКО

«Активний транспорт ГАМК у нервових терміналях головного мозку щурів за умов перинатальної гіпоксії та його модулювання антиепілептичними сполуками»,

яка подається на здобуття наукового ступеня

доктора філософії

у галузі знань 09 – Біологія за спеціальністю 091 – Біологія

Актуальність дисертаційної роботи. Актуальність дисертаційної роботи зумовлена зростанням поширеності неврологічних і нейродегенеративних захворювань, значна частина яких пов'язана з порушенням механізмів нейротрансмісії та наслідками гіпоксичних ушкоджень головного мозку в ранні періоди розвитку. Перинатальна гіпоксія є одним із провідних чинників формування довготривалих функціональних порушень центральної нервової системи, що можуть проявлятися когнітивними розладами, епілепсією та іншими неврологічними патологіями. Особливе значення у підтриманні балансу процесів збудження і гальмування належить ГАМК-ергічній системі, однак молекулярні механізми регуляції транспортер-залежного накопичення та вивільнення γ -аміномасляної кислоти за умов перинатальної гіпоксії залишаються недостатньо вивченими. У зв'язку з цим комплексне дослідження функціонування системи активного транспорту ГАМК у нервових терміналях різних структур головного мозку та пошук шляхів її фармакологічної модуляції за допомогою антиепілептичних і нейроактивних сполук є важливим як для поглиблення фундаментальних знань про механізми синаптичної передачі, так і для розробки нових підходів до профілактики та лікування гіпоксично-асоційованих неврологічних порушень.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, результатів досліджень з їх обговоренням, викладених у чотирьох розділах, висновків, списку використаних джерел літератури який містить 222 посилання. Зокрема, у роботі є такі розділи: Розділ 1, Огляд літератури; Розділ 2, Матеріали та методи

досліджень; Розділ 3, Експериментальна частина. Остання включає такі ключові підрозділи, які відповідають напрямкам досліджень: Особливості роботи транспортерів ГАМК у корі, таламусі та гіпокампі головного мозку щурів за умов перинатальної гіпоксії; Вплив NO-711 та β -аланіну на високоафінне транспортер-опосередковане накопичення $[^3\text{H}]\text{ГАМК}$ ізольованими нервовими закінченнями головного мозку щурів; Вплив антиепілептичного препарату леветирацетаму на ключові характеристики ГАМКергічної нейротрансмісії у різних відділах головного мозку щурів у нормі та за умов перинатальної гіпоксії; Оцінка можливості модулювання накопичення та вивільнення ГАМК у нервових терміналях нейроактивними сполуками та наночастинками з метою корегування наслідків перинатальної гіпоксії.

Дисертаційна робота викладена на 149 сторінках (з них 82 сторінки основної частини), містить рисунки і таблиці, що відповідають змісту роботи.

Основні результати дисертаційної роботи, їхня новизна та практичне значення. Мета роботи – встановити особливості функціонування системи активного транспорту ГАМК у нервових терміналях кори, гіпокампу та таламусу головного мозку щурів за умов перинатальної гіпоксії та дослідити можливості модулювання ГАМК-ергічної нейротрансмісії за допомогою антиепілептичних, нейроактивних сполук і наноматеріалів.

Завдання дослідження: дослідити вікові та гіпоксія-індуковані зміни транспортер-залежного накопичення і вивільнення ГАМК; оцінити внесок транспортерів GAT1 та GAT3 у регуляцію ГАМК-ергічної нейротрансмісії; визначити вплив Леветирацетаму, гас-BHFF, фторвмісних аналогів ГАМК, калікс[4]аренів та азот-легованого багаточарового графену на транспортні процеси ГАМК у нервових терміналях; з'ясувати можливості фармакологічної корекції порушень ГАМК-ергічної нейротрансмісії, спричинених перинатальною гіпоксією.

Методи дослідження: препаративна біохімія та ультрацентрифугування для виділення синапсом; спектрофлуориметрія для визначення концентрації білка, мембранного потенціалу та ацидифікації синаптичних везикул; радіоізотопний метод із використанням $[^3\text{H}]\text{ГАМК}$ для дослідження

накопичення та вивільнення нейромедіатора; фармакологічні підходи із застосуванням селективних інгібіторів і модуляторів ГАМК-ергічної системи; статистичний аналіз отриманих даних.

Отримані в дисертаційній роботі результати суттєво поглиблюють і розширюють сучасні наукові уявлення про молекулярні та клітинні механізми регуляції ГАМК-ергічної нейротрансмісії в центральній нервовій системі як за фізіологічних умов, так і за умов патологічних впливів, зокрема перинатальної гіпоксії. Проведені дослідження дозволили встановити нові закономірності функціонування системи транспорту ГАМК у різних структурах головного мозку та визначити особливості її адаптаційних змін у відповідь на гіпоксичне ушкодження. Отримані дані науково обґрунтовують доцільність цілеспрямованої модуляції ГАМК-транспортної системи, активності окремих типів транспортерів ГАМК та пов'язаних із ними пресинаптичних механізмів як перспективного напрямку фармакологічної корекції порушень нейрональної активності. Результати роботи мають важливе значення для розроблення нових підходів до профілактики та лікування епілепсії, наслідків перинатальної гіпоксії, нейродегенеративних і інших неврологічних захворювань, що супроводжуються дисбалансом процесів збудження та гальмування в головному мозку. Крім того, одержані результати створюють теоретичне та експериментальне підґрунтя для подальшого пошуку, синтезу й дослідження нових нейроактивних сполук із нейропротекторними, коригувальними та терапевтичними властивостями, а також для розробки інноваційних лікарських засобів, спрямованих на відновлення функціонального стану нервової системи при різних формах нейропатології.

Зауваження.

1. Огляд літератури практично не містить ілюстративного матеріалу, що утруднює сприйняття інформації.
2. На кількох рисунках на осі ОХ відзначено час після гіпоксичного впливу, що некоректно при порівнянні з контрольними тваринами, які такого впливу не зазнали.
3. На деяких рисунках наведено підписи англійською мовою.

4. Висновкам бракує лаконічності, що розмиває увагу читача і не дозволяє сфокусуватися на ключовій суті роботи.
5. Відсутня наскрізна нумерація рисунків, що утруднює читання роботи.
6. У вступі розділ «Методи, використані в роботі» надміру лаконічний і не включає всіх застосованих методів.
7. Наукова новизна роботи є переліком результатів та не містить узагальнень.
8. У переліку конференцій, де було представлено результати, слід залишити тільки ті конференції, де авторка дисертації була доповідачкою.
9. Розділ, присвячений лабораторним тваринам, мусить бути доповнений інформацією про утримання, раціон, доступ до їжі, вентиляцію приміщень, спосіб виведення з експерименту, наркоз тощо.
10. Рекомендовано включити перелік скорочень та уважно розшифровувати аббревіатури за першої згадки.
11. Робота має низку стилістичних та граматичних помилок, які легко усунути при уважному прочитанні.

Запитання.

1. З чим пов'язана відмінність у початковій швидкості накопичення [3H]ГАМК синаптосомами кори і гіпокаму у період досягнення статевої зрілості, порівняно з синаптосомами таламусу? З чим пов'язана різна динаміка накопичення ГАМК синаптосомами кори, гіпокампу і таламусу?
2. Чому інгібітори транспорту ГАМК β -аланін та NO-711 мають різні ефекти на різних етапах онтогенезу, на різних періодах після гіпоксії та у різних відділах головного мозку? Це ознака специфічності чи навпаки – непередбачуваності дії?
3. Чим продиктоване застосування Леветирацетаму у експериментах? Чим він кращий чи гірший за інші антиепілептичні препарати?
4. Опишіть схему лікування, яку за вашими даними доцільно застосовувати для корекції станів, пов'язаних з перинатальною гіпоксією.

5. Опишіть механізм дії Рас-BHFF. Чому ви вважаєте використані методи оцінки його впливу коректними? Які альтернативні методи варто було застосувати?

6. Опишіть фізіологічні ефекти збільшення/зменшення накопичення ГАМК у різних відділах мозку.

7. Порівняйте ефекти сполук калікс[4]аренового ряду та багат шарового графену на транспорт глутамату. Наскільки вони є специфічними?

Втім, наведені зауваження не знижують науково-практичну цінність представленого дисертаційного дослідження. Отже, результати проведеної роботи істотно розширюють існуючі практичні та теоретичні знання про біохімічні механізми інтегративних взаємодій.

Висновок. Вважаю, що дисертаційна робота Марини ДУДАРЕНКО «АКТИВНИЙ ТРАНСПОРТ ГАМК У НЕРВОВИХ ТЕРМІНАЛЯХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ ЗА УМОВ ПЕРИНАТАЛЬНОЇ ГІПОКСІЇ ТА ЙОГО МОДУЛЮВАННЯ АНТИЕПІЛЕПТИЧНИМИ СПОЛУКАМИ» за актуальністю, методичним рівнем, об'ємом та новизною отриманих експериментальних результатів, особистим внеском здобувача, високим науково-практичним значенням відповідає вимогам Постанови Кабінету Міністрів України «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» від 12 січня 2022 р. (№ 44) та може бути представлена до офіційного захисту на здобуття наукового ступеня доктора філософії у галузі знань 09 – Біологія за спеціальністю 091 – Біологія.

с.н.с. відділу структури та функції білка

Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

д.б.н.,

В.О. Чернишенко

