

## ВІДГУК

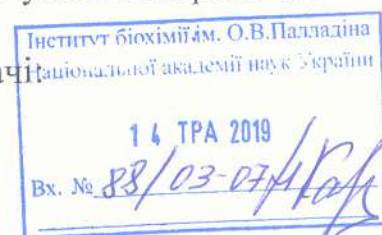
офіційного опонента на дисертаційну роботу *Пастухова Артема Олеговича* на тему – «Na<sup>+</sup>-залежний транспорт глутамату та екзоцитоз в нервових терміналях головного мозку за умов гіпотермії», поданої в спеціалізовану вчену раду Д 26.240.01 Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія

**Актуальність теми.** На мою думку, завжди до пріоритетних напрямків сучасних біохімічних досліджень належатимуть такі, які вивчають вплив низьких температур на динаміку накопичення глутамату, а також на Ca<sup>2+</sup>-залежне та Ca<sup>2+</sup>-незалежне вивільнення глутамату з нервових терміналей головного мозку для подолання наслідків нейрологічних розладів слід вважати актуальними.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами установи,** де виконувалась дисертація. Дисертаційна робота виконана в рамках бюджетних тем відділу нейрохімії Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України: «Екзоцитоз та активний транспорт нейромедіаторів у пресинапсі в нормі та за умов розвитку нейропатологій: регуляція, рецептор-опосередкована модуляція та пошук шляхів нейропротекції» (2014–2018 рр., № д.р. 0114U003214); експерименти з використанням магнітних наночастинок та акцептору холестеролу проходили за часткової підтримки гранту (2010–2014 рр., № д.р. 0110U005957) «Створення і аналіз біомодулюючих властивостей складного наноконструкції залізних та кальцій карбонатних наночастинок з наночастинками агрегатів циклодекстринів; оцінка нейротоксичного ризику його використання у нанонейротехнології» у рамках Державної цільової науково–технічної програми «Нанотехнології та наноматеріали», гранту «Відокремлення специфічних та побічних ефектів алостеричних модулаторів пресинаптичних ГАМК-Б рецепторів – сучасних мішеней регуляції нейросекреції, та нових антиепілептичних сполук на ключові характеристики ГАМК- та глутаматергічної нейропередачі» (2010–2014 рр., № д.р. 0115U003641) у рамках Цільової комплексної міждисциплінарної програми наукових досліджень НАН України «Молекулярні та клітинні біотехнології для потреб медицини, промисловості та сільського господарства», гранту «Розроблення підходів нейропротекції при довготривалих космічних місіях» у рамках Цільової комплексної програми НАН України з наукових космічних досліджень на 2018-2022 рр.

**Метою роботи** було дослідити модуляцію Na<sup>+</sup>-залежного накопичення та вивільнення, а також позаклітинного рівня глутамату та екзоцитозу в нервових терміналях головного мозку за умов помірної та глибокої гіпотермії.

Для досягнення мети було поставлено наступні задачі



1. Визначити динаміку змін накопичення, транспортер-опосередкованого та  $\text{Ca}^{2+}$ -залежного вивільнення глутамату з нервових терміналей головного мозку за умов помірної та глибокої гіпотермії.
2. Дослідити гомо- та гетерообмін глутамату у нервових терміналях за умов помірної та глибокої гіпотермії.
3. З'ясувати вплив помірної та глибокої гіпотермії на вивільнення глутамату, стимульоване активацією пресинаптичних іонотропних глутаматних рецепторів.
4. Дослідити комбінований вплив леветирацетаму та гіпотермії на вивільнення глутамату, стимульоване активацією пресинаптичних іонотропних глутаматних рецепторів.
5. Оцінити комбінований вплив акцептора холестеролу метил- $\beta$ -циклодесктрину (MCD) та гіпотермії на нервові терміналі головного мозку.
6. Дослідити можливість використання наночастинок, кон'югованих з MCD, для модуляції транспортер-опосередкованого накопичення та вивільнення глутамату в нервових терміналях.

**Що стосується** наукової новизни одержаних результатів, то автором вперше були досліджені особливості процесу транспорту глутамату в препаратах нервових терміналей за умов помірної та глибокої гіпотермії. Отримано нові дані щодо змін процесів накопичення та вивільнення основного збуджуючого нейромедіатора нервовими терміналями за умов помірної та глибокої гіпотермії. Застосування різних методичних підходів продемонструвало, що в умовах зниження температури у нервових терміналях спостерігається: зміна динаміки накопичення, тонічного вивільнення глутамату та екзоцитозу в нервових терміналях (але залишається сталим його позаклітинний рівень); зниження транспортер-опосередкованого вивільнення глутамату з нервових терміналей та вивільнення через дисипацію протонного градієнта синаптичних везикул та гомо- та гетерообміну глутамату; різна динаміка зниження рівня позаклітинного L-[ $^{14}\text{C}$ ]глутамату при активації різних типів пресинаптичних іонотропних глутаматних рецепторів; збільшення рівня NMDA (N-метил-D-аспаратат)-стимульованого вивільнення L-[ $^{14}\text{C}$ ]глутамату за присутності леветирацетаму.

Вперше показано, що видалення холестеролу з нервових терміналей за умов помірної та глибокої гіпотермії призводить до подальшого зниження транспортер-опосередкованого вивільнення глутамату, яке свідчить про посилення нейропротекторного ефекту гіпотермії.

**З практичної сторони** дисертантом було отримано дані, які мають значення для медицини, оскільки розширюють знання про механізми нейропротекторної дії помірної та глибокої гіпотермії.

Результати щодо комбінованого впливу гіпотермії та антиконвульсантів дозволяють практично вирішувати одну з актуальних проблем сучасної фармакології – комбінованого застосування кількох нейропротекторів. Дані щодо комбінованого застосування MCD та

гіпотермії, а також наночастинок, кон'югованих з MCD, перспективні для прикладного використання у галузі медицини та фармакології.

**Апробацію одержаних результатів** проведено на достатньому рівні. За матеріалами дисертації опубліковано 12 наукових праць, з них 7 статей у фахових міжнародних (6 статей) та вітчизняних (1 стаття) виданнях та 5 тез доповідей у збірках матеріалів вітчизняних та зарубіжних конференцій.

Дисертація викладена українською мовою на 163 сторінках друкованого тексту і складається із вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, результатів роботи та їх обговорення, заключення та списку використаних літературних джерел, що містить 302 найменування. Робота ілюстрована 37 рисунками.

**Методи** препаративної біохімії; метод лазерної кореляційної спектроскопії для порівняльної характеристики розміру нервових закінчень за умов зміни температури; спектрофлуориметричні методи для визначення мембранного потенціалу та закислення синаптичних везикул; радіоізотопні методи для аналізу накопичення та вивільнення глутамату; методи спектрофотометрії для визначення кількості протеїну; статистичні методи описані детально і загалом, дозволяють вирішити поставлені перед дисертантом завдання і досягти мети.

Отримані результати досліджень заслуговують високої оцінки і мають елементи новизни, фундаментальне та науково-практичне значення. Вони достатньо висвітлені у престижних наукових виданнях, а також апробовані на багатьох репрезентативних наукових форумах. А, найголовніше, вони дозволили зробити ряд важливих для теорії і практики висновків, які виділено на окремих сторінках.

Поряд з наведеними позитивними сторонами дисертаційної роботи, на мій погляд, необхідно виділити наступні дискусійні питання:

1. Чому помірна та глибока гіпотермія, на вашу думку, не змінює позаклітинний рівень глутамату (впливаючи на динаміку його накопичення і тонічного вивільнення глутамату та екзоцитоз у нервових терміналях) та завдяки яким механізмам чи процесам?
2. Чому саме для досліджень був обраний леветирацетам?
3. Використовувалися якого розміру покриті MCD наночастинки і яким чином вони видаляли позаклітинний холестерол?
4. Чи можна в майбутньому використовувати такі наночастинки в медичній практиці для зменшення початкової швидкості накопичення і загальної кількості накопиченого глутамату та збільшення його позаклітинного рівня?

### Загальний висновок

Дисертаційна робота *Пастухова Артема Олеговича*, присвячена дослідженню  $\text{Na}^+$ -залежному транспорту глутамату та екзоцитозу в нервових терміналях головного мозку за умов гіпотермії, є цілісною, закінченою науковою працею. Вона відповідає вимогам п.п. 9, 11, 12, 13 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р. (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015 р., № 1159 від 30.12.2015 р. та № 567 від 27.07.2016 р.), що висуваються до кандидатських дисертацій, а *Пастухов Артем Олегович* заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності 03.00.04 – біохімія.

Доктор біологічних наук,  
професор кафедри біохімії і фізіології  
тварин імені академіка М.Ф. Гулого  
Національного університету  
біоресурсів і природокористування  
України

Л.Г. Калачнюк

10.05.2019 р.

