

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Утєвської Світлани Володимирівни

«Вплив спадкової обтяженості та пренатального стресу на формування схильності до розвитку експериментального аутоімунного енцефаломієліту у щурів», подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія

Актуальність теми. Розсіяний склероз (РС) – одне з найпоширеніших нейродегенеративних захворювань центральної нервової системи (ЦНС) з до кінця не з'ясованою етіологією та патогенезом. Найчастіше РС вражає людей працездатного віку та характеризується хронічним перебігом і невпинною інвалідизацією. На сьогодні причетними до підвищення ризику розвитку і тяжкості перебігу РС вважають алелі більше 100 генів, частина з яких знаходиться в регіоні головного комплексу гістосумісності.

У свою чергу, зміна рівня статевих гормонів може призвести до модифікації активності про- і протизапальних цитокінів, рівня циркулюючих Т-клітин, процесу адгезії. У щурів пренатальна дія високого рівня материнського кортикостерону, під впливом тривалого стресу, викликає зниження активності гіпоталамо-гіпофізарно-гонадальної вісі та призводить у нащадків-самців до зниження в крові рівня тестостерону і лютеїнізуючого гормону в дорослому віці. Проте питання впливу пренатального стресу на формування схильності до розвитку і перебігу РС було поза увагою дослідників. Тому тему дисертаційної роботи слід розглядати як важливу та актуальну.

Зв'язок теми дисертації з державними, галузевими науковими програмами. Дисертаційна робота «Вплив спадкової обтяженості та пренатального стресу на формування схильності до розвитку експериментального аутоімунного енцефаломієліту у щурів» виконана в лабораторії нейрофізіології, імунології та біохімії ДУ ІНПН НАМН України в рамках тем, які фінансувалися

НАМН України: «Дослідити статеві особливості «сімейного» розсіяного склерозу та розробити підходи щодо визначення ризику розвитку демієлінізуючої патології у спадково-обтяженого розсіяним склерозом потомства (експериментальне дослідження)» (№ держреєстрації 0115U001048); «Вивчити нейробіологічні механізми впливу природно завершеної вагітності на перебіг розсіяного склерозу та схильність до формування демієлінізуючої патології у нащадків» (№ держреєстрації 0112U001251).

Наукова новизна отриманих результатів, їх теоретичне та практичне значення. Сукупність результатів дисертаційного дослідження характеризують його безперечну новизну. Дисертанту вдалося вперше на моделі РС – експериментальному аутоімунному енцефаломієліті – довести залежність ризику розвитку ЕАЕ та тяжкості його перебігу від комбінованого впливу пренатального стресу, віку імунізації тварин, статі і чутливості матерів до індукції ЕАЕ.

Уперше виявлений вплив умов пренатального розвитку на вікову динаміку захворюваності на ЕАЕ у щурів. У тварин, чий розвиток проходив за стандартних умов, значуще нижчий рівень захворюваності спостерігався у тварин пубертатного віку в порівнянні з щурами молодого і зрілого віку. У тварин, що зазнали дії пренатального стресу, рівні захворюваності в разі індукції ЕАЕ в пубертатному, молодому і зрілому віці практично співпадали.

Уперше встановлено зв'язок чутливості до індукції ЕАЕ пренатально стресованих щурів обох статей у зрілому віці та низького рівня тестостерону в сироватці крові.

Уперше, було виявлено, що динаміка кортикостерону та АnA1, викликана індукцією ЕАЕ у тварин зрілого віку, залежала від комбінованого впливу статевої приналежності щурів, умов пренатального розвитку і чутливості тварин до імунізації. У самців зниження рівнів кортикостерону та АnA1 викликано комбінованою дією пренатального стресу і схильністю до розвитку захворювання. У самок основним фактором, що призвів до зменшення рівня кортикостерону на десятий день після імунізації, виявився перенесений пренатальний стрес, а зниження АnA1 асоціювалося із чутливістю до розвитку

хвороби.

Практичне значення результатів дослідження. Отримані дані мають фундаментальне значення для глибшого розуміння етіології РС і визначення ролі пренатального стресу у формуванні вікових та статевих аспектів схильності до розвитку ЕАЕ залежно від типу чутливості матерів до індукції ЕАЕ. Отримані дані дозволяють сформулювати новий напрямок дослідження, який концентрує увагу на факторах, що діють в пренатальний період розвитку і призводять до епігенетичних модифікацій геному, які, у свою чергу, визначають особливості перебігу як ЕАЕ, так і РС. Отримані результати сприятимуть розробці нових методів профілактики захворюваності на РС, прогнозуванню ризику розвитку захворювання у нащадків хворих на РС матерів, прогнозуванню перебігу захворювання у пацієнтів з родинними формами РС та визначенню нових терапевтичних підходів до лікування РС.

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень та висновків, сформульованих у дисертації Дані дисертаційної роботи отримано з використанням апробованих сучасних методів, які є адекватними відповідно до вирішення конкретних завдань. Висновки роботи повністю ґрунтуються на отриманому автором фактичному матеріалі та його ретельному аналізі, їхня обґрунтованість базується на адекватних методах досліджень, достатньому обсязі та статистичному опрацюванні результатів.

Структура, обсяг та зміст роботи. Дисертація побудована згідно загальноприйнятих вимог. Робота викладена на 183 сторінках і включає: анотацію, вступ, огляд і аналіз наукової літератури, опис матеріалів і методів дослідження, розділи власних досліджень, обговорення власних і літературних даних, висновки, перелік джерел посилань, додатки. Список переліку літературних джерел налічує 176 посилань. Роботу проілюстровано 36 рисунками, 10 таблицями.

Зауважень до структури та обсягу дисертації немає. Дисертаційна робота написана українською мовою, викладена чітко, послідовно, обґрунтовано.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях

Основні результати дисертації повною мірою висвітлено у 2 статтях фахових виданнях України; 1 стаття у закордонному журналі, який індексується міжнародними наукометричними базами; 1 стаття у нефаховому спеціалізованому науковому виданні України. Опубліковано 4 тези доповідей у матеріалах Міжнародних та Українських з'їздів, конгресів і конференцій.

Характеристика й аналіз окремих розділів дисертації. В анотації, що представлена українською та англійською мовами, відображені основні положення та суттєві аспекти дисертаційного дослідження.

У вступі обґрунтовано актуальність роботи, вказаний її зв'язок з науковими темами, сформульовані мета та завдання дослідження, визначено наукову новизну та практичне значення одержаних результатів, надано відомості щодо особистого внеску здобувача, апробації результатів дослідження та публікацій по темі дослідження.

Огляд і аналіз наукової літератури має 4 підрозділи, в яких проаналізовано дані щодо визначення розсіяного склерозу, епідеміології, фактори ризику, механізму розвитку розсіяного склерозу, роль гормонів у розвитку розсіяного склерозу. Розглянуто експериментальні моделі розсіяного склерозу. Матеріал поданий логічно, доступно, послідовно, свідчить про ретельний аналіз вітчизняної та зарубіжної літератури, переконливо доводить необхідність подальшого дослідження.

До зауважень огляду літератури: іноді в тексті зустрічаються невдалі формулювання, наприклад «рівень вітаміну D, отриманий у віці 15 років», «підвищення широти»; некоректно вжито «нелюдиноподібні примати».

Другий розділ дисертації присвячений опису матеріалів та методів дослідження. У розділі представлено дизайн і описано організацію експерименту, комплекс методів, за допомогою яких вирішувались поставлені завдання: індукція експериментального аутоімунного енцефаломієліту, тестування неврологічних порушень при експериментальному аутоімунному енцефаломієліті, моделювання пренатального стресу, імуноферментні дослідження визначення рівня вмісту статевих гормонів, кортикостерону,

анексину-A1, вимірювання систолічного артеріального тиску у вагітних самок

Дослідження проводилося на тваринах батьківської групи у кількості 44 (32 самок та 12 самців), та на їх потомстві, тварин першого і другого послідів – 129 самок і 135 самця. Обрані методики є адекватними, сучасними і охоплюють різні функціональні рівні і відповідають поставленим завданням.

Зауваження до другого розділу: при опису дизайну експерименту не чітко показано які досліді проводилися на потомстві другого посліду. Для більш чіткого та повного уявлення цілісної картини досліджень та всіх етапів роботи бажано було б навести загальну схему проведення досліджень. Не вказано обґрунтованість дози енцефалітогенної суміші для індукції ЕАЕ експериментальних щурів, стор. 59; не зовсім зрозумілим є відмінність між поняттями «рухові порушення» та «моторні порушення», тривалість яких відповідно відображали індексами $T_{ki \geq 2}$ (кількість днів хвороби, коли показники рухових порушень дорівнюють або більше 2 балів КІ, одиниця вимірювання «день» та $T_{хв}$ (тривалість захворювання) – кількість днів, коли фіксуються моторні порушення, одиниця вимірювання «день»; невідповідність опису груп піддослідних тварин, що вказані у рис.2.4, стор. 65.

У третьому, четвертому та п'ятому розділах наведено результати власних досліджень. Третій розділ складається з шести підрозділів, у яких викладено вплив пренатального стресу та чутливості матерів до індукції ЕАЕ на перебіг експериментального аутоімунного енцефаломієліту у нащадків-щурів різної статі за умов моделювання ЕАЕ у різному віці. Розділ добре проілюстрований рисунками і таблицями.

Зауваження до третього розділу: перший підрозділ повторює опис методики розробки експериментальної моделі (підходів) для вивчення родинних форм розсіяного склерозу та модифікація шкали для оцінки рухових порушень, що вже було наведено у 2 розділі. Для більш кращого сприйняття бажано викладення результатів дослідження щодо перебігу експериментального аутоімунного енцефаломієліту у нащадків-щурів різної статі за умов моделювання ЕАЕ у різному віці у такій послідовності: пубертатний, молодий вік, дорослий вік.

У четвертому розділі розглядається вплив пренатального стресу на рівень стероїдних гормонів та анексину А-1 у щурів зрілого віку. Розділ складається з двох підрозділів. У першому підрозділі визначено рівень статевих гормонів, в залежності від умов пренатального розвитку щурів та їхньої чутливості до індукції ЕАЕ. У другому підрозділі показано вплив пренатального стресу на зміну рівнів кортикостерону та анексину-А1 у щурів зрілого віку різної статі за умов розвитку ЕАЕ. Отримані дані представлені в таблицях і рисунках. Зауваження до четвертого розділу: не коректно робити твердження за результатами аналізу тестостерону однієї тварини (стор.114); у дизайні експерименту зазначено, що групи формувалися, у тому числі, в залежності від чутливості матерів до ЕАЕ після імунізації, проте у табл. 4.1 представлені дослідження нащадків від «інтактних самок», що потребує пояснення; також потребує уточнення саме від яких груп нащадків та їх кількість, представлені результати досліджень на рис. 4.1, 4.2, 4.3.

У п'ятому розділі, що складається з двох підрозділів, висвітлено специфічність дії пренатального стресу як фактору, що впливає на формування схильності щодо розвитку експериментального аутоімунного енцефаломієліту. Отримані дані представлені в таблицях і рисунках.

У шостому розділі представлено обговорення власних та літературних даних. Здобувач демонструє обізнаність по даному науковому напрямку і вміння критично аналізувати й оцінювати отримані результати з урахуванням сучасних літературних даних, робить підсумки.

Висновки дисертаційної роботи обґрунтовані, відповідають поставленій меті й завданням дисертаційної роботи, ґрунтуються на отриманих результатах. Проте формулювання висновків потребує більшої лаконічності.

До загальних зауважень слід віднести наявність у тексті дисертації орфографічних, пунктуаційних та стилістичних помилок, що поодинокі трапляються, проте в цілому вони нечасті і загального хорошого враження від тексту не псують.

Під час рецензування дисертаційної роботи виникли наступні питання:

1. Чим обумовлений вибір моделі стресу в якості фактору впливу на формування схильності до розвитку експериментального аутоімунного енцефаломієліту та перебіг захворювання?

2. Як Ви можете пояснити дані, що за умов дії пренатального стресу спостерігається збільшення рівня захворюваності у щурів пубертатного віку в той час як частка хворих серед тварин молодого і зрілого віку дещо знизилась в порівнянні з тваринами, чий розвиток проходив у стандартних умовах утримання.

Зазначені зауваження та запитання не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи, а також на зменшують її наукової цінності.

Зважаючи на все викладене, вважаю, що дисертаційна робота Утевської Світлани Володимирівни «Вплив спадкової обтяженості та пренатального стресу на формування схильності до розвитку експериментального аутоімунного енцефаломієліту у щурів» є завершеною науковою працею і за своєю актуальністю, науковою новизною, практичним значенням, обсягом проведених досліджень та ступенем обґрунтованості наукових положень та висновків цілком відповідає вимогам пп. 9, 10, 11, 12 Тимчасового порядку присудження ступеня доктора філософії, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 6 березня 2019 року № 167, зі змінами, затвердженими постановою Кабінету Міністрів України №979 від 21 жовтня 2020 та № 608 від 9 червня 2021 р., а здобувач заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія.

Офіційний опонент

кандидат біологічних наук, доцент,

професорка кафедри анатомії і фізіології людини

імені д.б.н., проф. Я.Р. Синельникова

Тетяна КОМІСОВА

