

Відгук отримано
Голова спеціалізованої
вченої ради ДФ 64.051.040
проф. (Бондаренко Т.П.) 14.12.2021 р.

Голові спеціалізованої вченої ради
ДФ 64.051.040 Харківського національного
університету імені В.Н.Каразіна
проф. Бондаренко Тетяні Петрівні.
61022, м.Харків, майдан Свободи, 4.

ВІДГУК

офіційного опонента ЯНЦІЯ РОМАНА ІВАНОВИЧА доктора біологічних наук, професора, завідувача відділом імунофізіології Інституту фізіології ім.О.О.Богомольця НАН України на дисертаційну роботу Утевської Світлани Володимирівни “ Вплив спадкової обтяженості та пренатального стресу на формування схильності до розвитку експериментального аутоімунного енцефаломієліту у щурів”, виконаної в лабораторії нейрофізіології, імунофізіології та біохімії ДУ ІНПН НАМН України, представлену до захисту в спеціалізовану вчену раду ДФ 64.051.040 Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна МОН України утверджену наказом №1290 МОН України від 2.11.2021р., для розгляду та проведення разового захисту дисертації на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія з галузі знань 09 Біологія.

Актуальність проведених досліджень

Дисертаційна робота С.В. Утевської присвячена важливій медико-соціальній проблемі, що скерована на вивчення етіології і перебігу складного нейро-дегенеративного захворювання ЦНС - розсіяного склерозу (РС). Досліджувана тема продиктована високою поширеністю даного захворювання, що вражає людей працездатного віку і характеризується складним хронічним перебігом тривалою інвалідизацією і часто завершується летальністю.

Згідно даних ВОЗ стосовно розвитку, поширеності та ролі як екологічних, вікових особливостей генетичних чинників статевої схильності: жінки хворіють на РС у 2 рази частіше ніж чоловіки. Складність у з'ясуванні механізмів розвитку даного захворювання полягає в тому, що провідна роль належить нейрозапаленню з наявною аутоімунною компонентною демієлінізацією нервових волокон із залученням гіпоталамо-гіпофізо-адреналової та гонадальної систем організму і розвитку стресового стану.

Одним із важливих чинників, що визначають складність у вивченні РС є значна гетерогенність його перебігу, а причини розвитку і формування його окремих чинників вимагають з'ясування. Окрім того, вилучення факторів, які детермінують ризик розвитку та протікання РС є важливим завданням для розробки нових протективних засобів для створення персоніфікованих методів лікування. На що і було направлене виконане С.В.Утевською дисертаційне дослідження.

Наукова новизна отриманих результатів, їх теоритичне та практичне значення

Авторкою на основі результатів досліджень із використанням інформативних критеріїв оцінки уперше на моделі РС – експериментальному аутоімунному енцефаломієліті доведена залежність ризику розвитку ЕАЕ та тяжкості його перебігу від комбінованого впливу пренатального стресу, статі, віку імунізації тварин та чутливість матерів до імунізації. Було виявлено, що при індукції ЕАЕ у пубертантному віці умови пренатального розвитку не мали суттєвого впливу на перебіг хвороби у самців, тоді як у самиць перенесений пренатальний стрес асоціювався з пролонгуванням часу від перших проявів захворювання до фіксації максимальних показників рухових порушень.

З'ясовано, що при індукції ЕАЕ у тварин молодого віку перебіг хвороби залежав від комбінованого впливу статі, умов пренатального розвитку і чутливості матерів до імунізації. З'ясовано, що при індукції ЕАЕ в зрілому віці особливості перебігу хвороби у самиць визначалися умовами пренатального розвитку. Уперше був виявлений вплив умов пренатального розвитку на вікову динаміку захворюваності ЕАЕ у щурів. Значуще нижчий рівень захворюваності спостерігався у тварин пубертатного віку у порівнянні із щурами молодого і зрілого віку. Вперше встановлено, що у зрілому віці чутливість до імунізації на ЕАЕ пренатально стресових щурів обох статей пов'язана з низьким рівнем тестостерону в сироватці крові. Вперше було виявлено, що динаміка кортикостерону та АnА1, що викликана індукцією ЕАЕ у тварин зрілого віку, залежала від комбінованого впливу статевої приналежності щурів, умов пренатального розвитку і чутливості тварин до імунізації.

Дисертанткою при виконанні дослідження розширено існуючі уявлення етіології РС і визначення ролі пренатального стресу у формуванні вікових та статевих аспектів схильності до розвитку ЕАЕ залежно від типу чутливості матерів до індукції РС. Отримані дані дозволяють сформулювати новий напрямок досліджень, який концентрує увагу на факторах, що діють у пренатальний період розвитку і призводять до епігенетичних модифікацій геному, які, у свою чергу, визначають особливості перебігу як ЕАЕ, так і РС. Використана авторкою тваринна модель індукції експериментального аутоімунного

енцефаломієліту для дослідження впливу умов пренатального онтогенезу на формування схильності до розвитку і на перебіг родинних форм РС розширює експериментальні можливості вивчення комбінованого впливу факторів середовища та епігенетичного фону на етіологію та патогенез розсіяного склерозу.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень та висновків дисертаційної роботи.

Отримані наукові положення виконаної дисертаційної роботи базуються на застосуванні тваринної моделі розсіяного склерозу для дослідження впливу спадкової обтяженості та пренатального стресу на формування схильності до розвитку експериментального аутоімунного енцефаломієліту у щурів залежно від статі та віку імунізації. Такий підхід дав змогу достатньо охарактеризувати чутливість щурів до індукції РС, роль статевих і глюкокортикоїдних гормонів, а також анексину-A1 у розвитку експериментального аутоімунного енцефаломієліту. Охарактеризовано вплив перенесеного пренатального стресу на рецептивну чутливість до статевих і глюкокортикоїдних гормонів, вікових і статевих особливостей перебігу даного захворювання. Достатній масив оброблених даних від 11 піддослідних груп самиць, самців і нащадків лише підтверджує обґрунтованість отриманих результатів та сформованих висновків.

Достовірність отриманих результатів не викликає сумнівів і підтверджується повнотою теоретичних обґрунтувань та їх принциповим узгодженням з відомими результатами інших авторів.

Утевська С.В. проявила себе як зрілий та досить компетентний науковець, що вміє ставити завдання та знаходити обґрунтовані адекватні шляхи їх розв'язання. Вона повністю володіє інформацією, що не тільки необхідна для виконання дослідження за обраною темою, але й розкриває та уточнює суміжні питання. Авторка роботи достатньо розуміється на принципах пошуку та аналізу сучасної наукової літератури, добре володіє необхідними для отримання достовірних результатів методами дослідження, і показала здатність до фахового та критичного аналізу отриманих результатів та співставленні їх з даними інших дослідників, що дало змогу сформулювати власну цілком обґрунтовану точку зору на досліджувану проблему.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.

Робота була 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 спадкоємно-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).

Обсяг і структура дисертації, оцінка її завершеності та відповідності встановленим вимогам.

Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 3 розділів власних досліджень, обговорення результатів, загальних висновків, списку використаних джерел і додатку. Робота ілюстрована 10 таблицями і 36 рисунками. Список використаних джерел містить 176 найменувань. Загальний обсяг дисертаційної роботи складає 183 сторінок машинопису.

У вступі достатньою мірою аргументовано актуальність теми, чітко сформульовано мету роботи та конкретні завдання які поставлені для її досягнення. Авторкою виокремлено питання, які з'ясовані досить повно, але також висвітлено й ті питання, що потребують подальшого вивчення. На основі означеного обґрунтовано вибір теми та її актуальність, сформульовано мету та завдання дослідження пояснено зв'язок роботи з науковими програмами Харківського Інституту неврології, психіатрії та наркології НАМН України, де вона виконувалась, зазначено наукову новизну, теоретичне та практичне значення отриманих результатів, а також наведено відомості щодо цього особистого внеску здобувача, апробацій матеріалів дисертаційного дослідження та публікацій за темою роботи.

Огляд літератури написано в аналітично-синтетичному стилі з урахуванням сучасних даних про етіологію і патогенез РС, як нейродегенеративного захворювання ЦНС. Даний розділ вміщує ґрунтовний аналіз відомостей з теми дослідження та свідчить про здатність автора до критичного осмислення та синтезу наукових даних. Досить достеменно розглянуто різноманітність типів перебігу РС, які залежать від типів клітин, пулу регуляторних протеїнів, рівня статевих і глюкокортикоїдних гормонів залучених до патогенетичних механізмів розвитку хвороби, активація гіпоталамо-гіпофізарно-адреналової та гормональної системи. Значна роль приділена в огляді впливу стресу на формування схильності до розвитку і перебігу розсіяного склерозу.

У розділі 2 "Матеріали та методи дослідження" наведено характеристику формування груп експериментальних тварин (11 груп) загалом 44 батьківські особини, 129 потомки самиць та 135 самців. Відрадно відзначити наглядний дизайн і схему експериментів при фізіологічних, біохімічних та імунологічних дослідженнях, які були застосовані в роботі. Використані лабораторні дослідження узагальнено у представленому досить детальному і

послідовному алгоритмі методологічних підходів до проведення експериментів, що вкрай рідко зустрічається у дисертаціях, які представлені на здобуття ступеня доктора філософії. Слід зазначити, що використання широкого та взаємопов'язаного комплексного методологічного підходу при виконанні поставлених завдань дослідження сприяють збільшенню достовірності отриманих результатів. Використані сучасні методичні підходи відповідають цілям і завданням роботи.

Розділ власних досліджень (3; 4; 5) можна умовно розділити на дві частини, які між собою тісно пов'язані за логікою і змістовністю, але мають свої окремі завдання. Перший із розділів (3) складає базисну основу для розробки експериментальної моделі антиген-індукованого імунокомплексного запалення ЦНС, що формує розвиток РС, модифікацію шкал рухових порушень у тварин (5-ти бальну з кроком 0.5 балів; 6-ти бальну з кроком 0.25 балів та 10-ти бальну з кроком в 1 бал). Авторкою використана і модифікована 6-ти бальна оцінка з кроком 0.25 балів, що дало можливість чітко визначити настання рухових порушень в оцінці дозо-залежного ефекту розвитку аутоімунної патології РС – таким чином дозволяє фіксувати всю динаміку порушень моторних функцій у тварин. Даний розділ також присвячений широкому спектру досліджень хронічного пренатального стресу на динаміку захворювання на ЕАЕ.

Зроблений висновок, що такі параметри як: захворюваність, смертність, показники тяжкості перебігу, залежали від комбінованого впливу: статі піддослідних тварин, – чутливість матерів до індукції ЕАЕ – умови пренатального розвитку – вік імунізації піддослідної тварини.

У другій частині одержаних результатів власних досліджень (розділ 4; 5) авторкою з'ясовано, що пренатальний стрес викликає у тварин зниження рівня як кортикостерону, так і його вторинного месенжера – анексину. За умов пренатального стресу відмічено зниження рівня тестостерону та естрадіолу. Також відмічено, що серед пренатально стресованих тварин обох статей резистентність щодо індукції ЕАЕ корелювала з істотно вищими показниками в крові тестостерону, так і тенденцією щодо збільшення рівня естрадіолу, що засвідчує протективну роль андрогенного гормону та значення естрадіолу як одного із регуляторних чинників в розвитку імуноіндукованого запалення.

У розділі 6 (обговорення) дисертанткою із залученням широкого кола даних сучасних досліджень обговорюються та піддаються аналізу отримані власні результати, під час чого поєднуються аналітичні та систематичні аспекти наявних даних з питань, що вивчаються в дисертації і на основі обґрунтованих підсумків, окреслюються не розв'язані до теперішнього часу проблеми цієї

важливої для сучасної медико-біологічної науки, зокрема аспекти можливого реального впливу на механізми розвитку і формування імуноіндукованих захворювань організму і, зокрема розсіяного склерозу – енцефаломієліту, а також окреслюються напрямки подальших наукових досліджень.

Повнота викладу наукових положень, сформульованих у дисертації в опублікованих роботах.

Основні положення дисертації викладені в 4-х наукових роботах: 2 - у наукових виданнях України, 1 - у закордонному науковому журналі, який входить до міжнародної наукометричної бази даних «SCOPUS», 1 – у спеціалізованому науковому виданні України. Публічне висвітлення результатів дисертації відображено в чотирьох роботах апробаційного характеру і Міжнародних і Всеукраїнських з'їздів, конгресів та конференцій. Робота ілюстрована 10 таблицями і 36 рисунками. Список використаних джерел містить 176 найменувань. Загальний обсяг дисертаційної роботи складає 183 сторінок машинопису.

Висновки дисертації повністю відображають одержані основні результати, логічно сформульовані, об'єктивно відповідають поставленим завданням та меті дослідження, базуються на отриманих результатах використаного наукового дослідження.

Особистий внесок здобувачки є достатній. Дисертація є завершеною науковою працею, її зміст не викликає принципових зауважень. При скрупульозному розгляді та аналізі дисертаційної роботи виникла необхідність зробити окремі зауваження та уточнення.

1. У методах дослідження не приведена мотивація з використання популяції щурів, а не мишей. На сьогодні, переважна більшість досліджень проводиться саме на останніх, оскільки для більшості популяцій щурів відсутні зони демієлінізації, які характерні для ураження спинного та головного мозку, що є властиве при ЕАЕ. Виходячи із мовленого вище, яка лінія щурів була використана у ваших дослідженнях?
2. Відомо, що у розвитку РС посилений вклад вносить аутоімунна компонента, гормональна насиченість, стать, вік. Виходячи із цього, чи впливає вагітність (як одна із форм запального процесу в організмі) на розвиток і перебіг РС?
3. Який захисний механізм може лежати в основі впливу глюкокортикоїдів при ЕАЕ?
4. Яка із схильностей до розвитку ЕАЕ може слугувати домінантою?
5. Чим обумовлений вибір останнього триместру вагітності в моделі пренатального стресу?
6. При аналізі результатів дослідження (розділ 6) варто було б авторці звернути увагу на стресовий вплив світлового десинхронозу, що, як відомо, викликає

гіпогонадізм, призводить до гормонального дисбалансу, та, назагал, призводить до фемінізації самців та маскулінізації самиць, що не виключає його ролі при аутоімунному моделюванні ЕАЕ.

Щодо зауважень, то хотілося б почути більш детальне висвітлення механізмів формування ЕАЕ. Як загальне зауваження до оформлення роботи можна віднести перезавантаженість посиланнями на дані літератури в розділах власних досліджень та значний об'єм приведених висновків (їх 5 на 4 ст.). По тексту роботи присутні також поодинокі деякі русизми (нап. самки - укр. самиці; ось - вісь; шаг - крок тощо), граматичні та стилістичні неточності. Хоча їх вкрай мало і вони не погіршують загальне позитивне враження від дисертації. Висловлені вище зазначені зауваження суттєво не впливають і не знижують високу оцінку дисертаційної роботи та не погіршують її теоретичну та науково – прикладну цінність, а лише підкреслюють актуальність, вагомість і перспективність проведеного авторкою дослідження.

Висновок: дисертаційна робота «Вплив спадкової обтяженості та пренатального стресу на формування схильності до розвитку експериментального аутоімунного енцефаломієліту у щурів», яка представлена на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія, є повністю закінченою науковою працею, яка розкриває загальнобіологічні механізми розвитку і перебігу ЕАЕ за умов спадкової обтяженості та пренатального стресу у щурів, виконаною із застосуванням сучасних комплексних методологічних підходів. Дисертаційна робота має високий ступінь актуальності та наукової новизни, істотне теоретичне і практичне значення, відповідає поставленій меті та завданням, містить висновки, які витікають із дисертації, що свідчить про високий науковий рівень здобувачки, є кваліфікаційною науковою працею, яка виконана здобувачем особисто. У роботі відсутні порушення академічної доброчесності.

Зміст дисертаційної роботи відповідає спеціальності 091 - Біологія, задовольняє вимогам наказу Міністерства освіти і науки України від 12.01.2017 р. №40 "Про затвердження вимог до оформлення дисертацій" і постанови Кабінету Міністрів України від 06.03.2019 р. №167 (зі змінами, внесеними згідно постановами КМУ України №979 від 21.10.2020 та МОН України №1296 від 02.12.2021), а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – Біологія.

д.б.н., професор, заслужений діяч науки

і техніки України, завідувач відділу імунології

Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України

Підпис  Янчій Р.І.
Засвідчую.
Вчений секретар

