

## **ВИСНОВОК**

**про наукову новизну, теоретичне та практичне  
значення результатів дисертації**

**Утевської Світлани Володимирівни на тему «Вплив спадкової  
обтяженості та пренатального стресу на формування схильності до  
розвитку експериментального аутоімунного енцефаломієліту у щурів» на  
здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 09 – Біологія за  
спеціальністю 091 – Біологія**

### **1. Обґрунтування вибору теми дослідження.**

Актуальність теми дисертаційної роботи обумовлена необхідністю вивчення механізмів, що визначають варіабельність перебігу розсіяного склерозу, одного з найпоширеніших нейродегенеративних захворювань центральної нервової системи, яке найчастіше вражає людей працездатного віку та характеризується хронічним перебігом і невпинною інвалідизацією. Ризик розвитку РС залежить від комбінованого впливу генетичної схильності, яка визначає значно вищий ризик розвитку захворювання у людей, які мають родичів з РС, та впливу факторів навколишнього середовища.

Визначення факторів навколишнього середовища, які пов'язані зі змінами ризику захворювання та динамікою хвороби при родинних формах РС є актуальним завданням дослідження патогенезу розсіяного склерозу. Питання впливу пренатального стресу на формування схильності до розвитку і перебігу РС було поза увагою дослідників. Стрес, що діє на плід у третьому триместрі пренатального розвитку, виступає як індуктор епігенетичної модифікації активності ряду генів, що призводить до . Цей вплив здійснюється через зміни активності ГГА-осі, що пов'язані зі змінами експресії генів рецепторів до ГК, а також зміни рівня статевих гормонів у тварин протягом життя. На сьогодні у проблемі РС найменш вивченим є епігенетичний аспект, який з урахуванням сучасних реалій набуває особливої актуальності.

Актуальність вищеописаних проблем, їх значимість для досліджень механізмів патогенезу та розробці профілактичних заходів, зумовили вибір теми дослідження, його мету та завдання.

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).

**Метою дисертаційної роботи** є дослідження пренатального стресу як фактору впливу на статеві та вікові особливості чутливості до імунізації на експериментальний аутоімунний енцефаломієліт (ЕАЕ) і перебіг ЕАЕ в якості моделі РС у спадково-обтяженого потомства щурів.

Для досягнення даної мети були поставлені та вирішені такі **завдання**:

1. на основі ЕАЕ створити тваринну модель для дослідження впливу пренатального стресу на формування схильності до розвитку і перебіг захворювання при родинних формах РС.
2. вивчити вікові та статеві особливості розвитку ЕАЕ у потомства, спадково-обтяженого за материнською лінією.
3. вивчити вплив пренатального стресу на вікові та статеві особливості розвитку ЕАЕ у потомства, спадково-обтяженого за материнською лінією.
4. вивчити вікові та статеві особливості розвитку і тяжкість перебігу ЕАЕ у щурів, народжених від стійких щодо розвитку ЕАЕ матерів.
5. вивчити вплив пренатального стресу на вікові та статеві особливості розвитку і тяжкість перебігу ЕАЕ у щурів, народжених від стійких щодо розвитку ЕАЕ матерів.
6. дослідити вміст кортикостерону та анексину-А1 у плазмі крові (до- і після імунізації енцефалітогенною тканиною) щурів, нащадків матерів з різною чутливістю до індукції ЕАЕ, в залежності від умов пренатального розвитку.
7. дослідити вміст статевих гормонів у плазмі крові (до- і після імунізації енцефалітогенною тканиною) щурів, нащадків матерів з різною чутливістю до індукції ЕАЕ, в залежності від умов пренатального розвитку.
8. дослідити питання специфічності дії пренатального стресу в якості фактору впливу на формування ризику розвитку і перебіг ЕАЕ у щурів, нащадків матерів з різною чутливістю до індукції ЕАЕ.

**Об'єкт дослідження:** експериментальний аутоімунний енцефаломієліт.

**Предмет дослідження:** рівень захворюваності після індукції ЕАЕ, рівень смертності, клінічні показники тяжкості перебігу ЕАЕ, вміст статевих гормонів, кортикостерону та анексину-А1 у сироватці крові.

**Методи дослідження.** У роботі були використані такі методи: експериментальне моделювання РС внаслідок імунізації лабораторних щурів, тестування неврологічних порушень при ЕАЕ за допомогою Шкали неврологічних порушень, цитологічний аналіз вагінальних мазків для визначення стадії естрального циклу, моделювання неунікного стресу впродовж третього триместру вагітності самок щурів, імуноферментне визначення вмісту стероїдних гормонів та анексину-А1 у сироватці крові

лабораторних тварин, вимірювання систолічного артеріального тиску у вагітних самок, статистичні методи аналізу отриманих даних (точний критерій Фішера або  $\chi^2$  квадрат), критерій Вілкоксона (критерій  $U$  Манна–Уїтні), критерій  $H$  Краскела–Уоліса).

**Висновок біоетичної експертизи:** дисертаційна робота Утевської Світлани Володимирівни на тему «Вплив спадкової обтяженості та пренатального стресу на формування схильності до розвитку експериментального аутоімунного енцефаломієліту у щурів» виконана без порушень міжнародно визнаних біоетичних норм проведення експериментів з тваринами.

## **2. Формулювання наукового завдання, нове вирішення якого отримано в дисертації.**

Розробка моделі для дослідження родинних форм розсіяного склерозу. Дослідження впливу перенесеного пренатального стресу як нового фактору впливу на ризик розвитку та параметри перебігу експериментального аутоімунного енцефаломієліту у щурів трьох вікових груп, нащадків матерів з різною чутливістю до індукції ЕАЕ. Визначення окремих ефектів дії пренатального стресу на рівні статевих гормонів та динаміку рівнів кортикостерону та анексину-А1 на фоні індукованого ЕАЕ у щурів, нащадків матерів з різною чутливістю до індукції ЕАЕ. Дослідження специфічності дії пренатального стресу як фактору впливу на ризик розвитку та параметри перебігу експериментального аутоімунного енцефаломієліту у щурів.

## **3. Наукові положення, розроблені особисто дисертантом, та їх новизна.**

Особисто дисертанткою у представленій роботі вперше було виявлено значення перенесеного пренатального стресу як фактору впливу на ризик розвитку та перебіг ЕАЕ у тварин трьох вікових груп, нащадків матерів з різною чутливістю до індукції ЕАЕ.

### **Вперше:**

1) на моделі РС – експериментальному аутоімунному енцефаломієліті – доведена залежність ризику розвитку ЕАЕ та тяжкості його перебігу від комбінованого впливу пренатального стресу, віку імунізації тварин, статі і чутливості матерів до індукції ЕАЕ. Було виявлено, що при індукції ЕАЕ у самців у пубертатному віці умови пренатального розвитку не мали суттєвого впливу на перебіг хвороби. Тоді як у самок перенесений пренатальний стрес асоціювався з пролонгуванням часу від дня перших проявів захворювання до дня з максимальними показниками рухових порушень, що призводило до більш високих показників рівня максимальних рухових порушень.

2) виявлено, що при індукції ЕАЕ у тварин молодого віку перебіг хвороби залежав від комбінованого впливу статі, умов пренатального розвитку і чутливості матерів до індукції ЕАЕ. Найменший ризик захворюваності та смертності серед молодих щурів визначався комбінованим впливом факторів: жіноча стать, чутливість матері до імунізації та перенесений пренатальний стрес. Комбінована дія таких факторів як чоловіча стать, чутливість матері до імунізації та перенесений пренатальний стрес у тварин, що хворіли, виявлялася умовою більш легкого перебігу ЕАЕ та виживання.

3) з'ясовано, що при індукції ЕАЕ щурам зрілого віку умови пренатального розвитку визначали у самок особливості перебігу хвороби. Такі показники тяжкості перебігу ЕАЕ, як «максимальний рівень рухових порушень» і «кількість днів хвороби» (коли показники рухових порушень дорівнюють або більше 2 балів КІ), у пренатально стресованих самок були значно нижчими, ніж у тварин, чий пренатальний розвиток проходив за стандартних умов.

4) виявлено 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 у порівнянні з щурами молодого і зрілого віку. У тварин, що зазнали дії пренатального стресу, рівні захворюваності при індукції ЕАЕ в пубертатному, молодому і зрілому віці практично співпадали.

5) встановлено зв'язок чутливості щодо індукції ЕАЕ пренатально стресованих щурів обох статей у зрілому віці та низького рівня тестостерону у сироватці крові.

6) виявлено, що динаміка кортикостерону та АnА1, 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 АnА1 було викликано комбінованою дією пренатального стресу і схильністю щодо розвитку захворювання. У самок основним фактором, що призвів до зменшення рівня кортикостерону на 10 день після імунізації, виявився перенесений пренатальний стрес, а зниження АnА1 асоціювалося із чутливістю щодо розвитку хвороби.

#### **4. Обґрунтованість і достовірність наукових положень, висновків і рекомендацій, які захищаються.**

Обґрунтованість та достовірність наукових положень, результатів і висновків дисертації забезпечена тим, що вони одержані з використанням таких апробованих методів дослідження, як експериментальне моделювання РС внаслідок імунізації лабораторних щурів на експериментальний аутоімунний енцефаломієліт, тестування неврологічних порушень при ЕАЕ за допомогою Шкали неврологічних порушень, цитологічний аналіз вагінальних мазків для визначення стадії естрального циклу, моделювання

неуникного стресу впродовж третього триместру вагітності самок щурів, імуноферментне визначення вмісту стероїдних гормонів та анексину-А1 у сироватці крові лабораторних тварин, вимірювання систолічного артеріального тиску у вагітних самок, статистичні методи аналізу (точний критерій Фішера або хі-квадрат ( $\chi^2$ ), критерій Вілкоксона (критерій  $U$  Манна-Уїтні), критерій  $H$  Краскела-Уоліса.

Отримані результати мають чітку та наочну інтерпретацію та узгоджуються із сучасними уявленнями про патогенез розсіяного склерозу. Їх високий науковий рівень підтверджується тим, що вони оприлюднені в журналах, які застосовують попереднє рецензування робіт, що подаються.

#### **5. Рівень теоретичної підготовки здобувача, його особистий внесок у вирішення конкретного наукового завдання. Рівень обізнаності здобувача з результатами наукових досліджень інших учених.**

Здобувачка показала достатній рівень теоретичної підготовки з питань фізіології, генетики та методики проведення досліджень. Для вирішення наукового завдання здобувачкою були розроблені схеми спарювання тварин батьківської групи, проведені численні довготривалі дослідження впливу перенесеного пренатального стресу на пов'язаний з віком ризик захворювання та перебіг ЕАЕ у щурів різної статі, нащадків матерів з різною чутливістю до індукції ЕАЕ. Особисто здобувачкою був проведений збір проб крові, у піддослідних тварин, підготовку проб для визначення рівня аналітів та ІФА визначення рівнів статевих гормонів, кортикостерону та анексину-А1 у сироватці крові. Узагальнення одержаних даних, що було проведене здобувачкою, дозволило встановити комплексний вплив перенесеного пренатального стресу, чутливості матерів до індукції ЕАЕ, статі тварин та віку імунізації піддослідних тварин на ЕАЕ. А також виявити зв'язок між змінами у кортикостероїдній регуляції та захворюваності і перебігу ЕАЕ у пренатально стресованих тварин, що були імунізовані на ЕАЕ у молодому віці.

Здобувачка показала високий рівень обізнаності з результатами наукових досліджень інших учених за темою дисертації.

#### **6. Наукове та практичне значення роботи**

Результати роботи важливі для поглибленого розуміння етіології РС і визначення ролі пренатального стресу у формуванні вікових і статевих аспектів схильності щодо розвитку ЕАЕ в залежності 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 будуть сприяти 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 при лікуванні РС.

## **7. Використання результатів роботи**

Результати роботи Утевської С.В. були використані при виконанні НДР, 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).

## **8. Повнота викладу матеріалів дисертації в публікаціях та особистий внесок здобувача в публікації**

### **Наукові праці, в яких опубліковані основні результати дисертації здобувача з результатами наукових досліджень**

1. Гейко, В. В., Утевская, С. В. (2014) Беременность и индуцированный на разных сроках гестационного периода экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит. *Журнал неврологии и психиатрии имени С. С. Корсакова. Спецвыпуски*, 114 (10), 25–32. (Scopus). URL: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85100123286&origin=resultslist> (Scopus)

Особистий внесок здобувача: розробка дизайну експерименту, виготовлення енцефалітогенної суміші, індукція експериментального аутоімунного енцефаломієліту у вагітних самок, тестування рівня рухових порушень, підготовка матеріалів дослідження до друку.

2. Утевская, С. В., & Гейко, В. В. (2018) Половые особенности заболеваемости и течения экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита у крыс под влиянием пренатального стресса. *Фактори експериментальної еволюції організмів. Збірник наукових праць*, 23. 238–243. DOI: <https://doi.org/10.7124/FEEO.v23.1021> URL: [http://www.utgis.org.ua/journals/index.php/Factory/issue/view/Factory\\_V23\\_2018](http://www.utgis.org.ua/journals/index.php/Factory/issue/view/Factory_V23_2018)

Особистий внесок здобувача: участь у розробці дизайну експерименту, виготовлення енцефалітогенної суміші, індукція експериментального аутоімунного енцефаломієліту у щурів батьківської групи, тестування рівня рухових порушень, парування тварин і тестування настання вагітності у самок, моделювання неunikного стресу у вагітних самок, індукція експериментального аутоімунного енцефаломієліту у щурів дослідних груп, тестування рівня рухових порушень, статистичний аналіз отриманих даних,

обговорення отриманих результатів, підготовка матеріалів дослідження до друку.

3. Утевська, С. В. (2019) Перебіг експериментального аутоімунного енцефаломієліту (ЕАЕ) у пренатально-стресованих самців щурів, нащадків матерів з різною чутливістю до ЕАЕ. *Фактори експериментальної еволюції організмів*, 24, 244–248. DOI: <https://doi.org/10.7124/FEEEO.v24.1109> URL: [http://www.utgis.org.ua/journals/index.php/Factory/issue/view/FEEEO\\_V24\\_2019](http://www.utgis.org.ua/journals/index.php/Factory/issue/view/FEEEO_V24_2019)

#### **Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації**

4. Утевська, С. В. (2016, жовтень) *Вплив пренатального стресу на перебіг експериментального аутоімунного енцефаломієліту (модель розсіяного склерозу) у щурів репродуктивного віку*. Стендова доповідь представлена на VII Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю. Харків, Україна.

5. Утевська, С. В. (2017, березень) *Особливості розвитку експериментального аутоімунного енцефаломієліту (модель розсіяного склерозу) у пренатально стресованих щурів в залежності від віку*. Стендова доповідь представлена на Шістнадцятих Данилевських читаннях, м. Харків, Україна.

6. Utevska, S. V., Geyko, V. V., & Berchenko, O. G. (2017, June) Effect of prenatal stress on the risk of the development and the clinical course of experimental autoimmune encephalomyelitis in rats. In G. Bakalkin, O. Berezovska (Chairmen), *Cellular and molecular mechanisms of brain dysfunctions VII Congress of the Ukrainian Society for Neuroscience*, Kyiv, Ukraine

Особистий внесок здобувача: розробка дизайну експерименту, співучасть у виконанні експериментального дослідження, збір даних, статистичний аналіз даних).

7. Utevska, S., Geyko, V., & Berchenko, O. (2019, August) *Prenatal stress-induced sex differences in the incidence and the course of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) in adult rats, the offspring of mothers with different sensitivity to EAE*. Paper presented at the 14<sup>th</sup> International Congress of the Polish Neuroscience Society, Katowice, Poland

Особистий внесок здобувача: розробка дизайну експерименту, співучасть у виконанні експериментального дослідження, збір даних, статистичний аналіз даних.

#### **Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації**

8. Гейко, В. В., Берченко, О. Г., & Утевська, С. В., (2019) Формування експериментального аутоімунного енцефаломієліту у потомства чутливих і стійких до його індукції щурів як моделі «сімейних» форм розсіяного склерозу. *Журнал національної академії медичних наук України*, 25 (1), 21-24.

Особистий внесок здобувача: співучасть у виконанні експериментального дослідження, збір даних, статистичний аналіз даних.

Результати дисертації повністю відображено в публікаціях.

На підставі вивчення тексту дисертації здобувача, наукових праць здобувача та Протоколу контролю оригінальності (перевірку наявності текстових запозичень виконано в антиплагіатній інтернет-системі Strikeplagiarism.com) встановлено, що дисертаційна робота виконана самостійно, текст дисертації не містить плагіату, а дисертація відповідає вимогам академічної доброчесності.

## **9. Апробація матеріалів дисертації**

Основні результати роботи були представлені на VII Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю, жовтень 2016 р., м. Харків, Україна; НПК «Шістнадцяті Данилевські читання» березень 2017 р., м. Харків, Україна; VII Congress of the Ukrainian Society for Neuroscience, June, 2017, Kyiv, Ukraine; 14<sup>th</sup> International Congress of the Polish Neuroscience Society, August, 2019, Katowice, Poland; XIV Міжнародній науковій конференції «Фактори експериментальної еволюції організмів» вересень, 2019 р. м. Київ (Україна).

## **10. Оцінка мови та стилю дисертації**

Дисертація написана науковим стилем мовлення, структура дисертації відповідає алгоритму здійсненого авторкою дослідження. Матеріал дисертації викладено в логічній послідовності та доступно для сприйняття. Зміст, структура, оформлення дисертації та кількість публікацій відповідають вимогам «Тимчасового порядку присудження ступеня доктора філософії» (постанова Кабінету Міністрів України від 06.03.2019 р. № 167 зі змінами), наказу Міністерства освіти і науки України від 12.01.2017 р. № 40 «Про затвердження вимог до оформлення дисертацій».

## **11. Відповідність змісту дисертації спеціальності з відповідної галузі знань, з якої вона подається до захисту**

За своїм фаховим спрямуванням, науковою новизною і практичною значимістю дисертаційна робота Утевської С. В. відповідає спеціальності 091 – Біологія галузі знань 09 – Біологія. Здобувачкою повністю виконано освітню та наукову складову освітньо-наукового рівня вищої освіти.

## **12. Рекомендація дисертації до захисту**

Дисертаційна робота Утевської Світлани Володимирівни «Вплив спадкової обтяженості та пренатального стресу на формування схильності до розвитку експериментального аутоімунного енцефаомієліту у щурів» відповідає вимогам, передбаченим пунктом 10 «Тимчасового порядку проведення експерименту з присудженням ступеня доктора філософії» (постанова Кабінету Міністрів України від 06.03.2019 р. № 167 зі змінами).

Враховуючи високий рівень виконаних досліджень, а також актуальність теми роботи, наукову новизну результатів та їх наукове та практичне значення, рішення фахового семінару кафедри генетики і цитології біологічного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна дисертація Утевської С. В. «Вплив спадкової обтяженості та пренатального стресу на формування схильності до розвитку експериментального аутоімунного енцефаомієліту у щурів» рекомендується до захисту в спеціалізованій ученій раді для здобуття ступеня доктор філософії за спеціальністю 091 – Біологія галузі знань 09 – Біологія.

Рецензент: д.б.н., ст.н.с., проф.  
кафедри генетики і цитології  
біологічного факультету  
Харківського національного  
університету імені В. Н. Каразіна

Володимир СТРАШНЮК

Рецензент: к.б.н., доц. кафедри  
генетики і цитології біологічного  
факультету Харківського  
національного університету  
імені В. Н. Каразіна

Валерія НАВРОЦЬКА

07.09.2021

ПІДПИС ЗАСВІДЧУЮ  
Начальник відділу кадрів

