

В І Д Г У К

офіційного опонента кандидата біологічних наук старшого наукового співробітника

Півень Оксани Олександрівни на дисертаційну роботу

Гур'янової Вероніки Леонідівни «МікроРНК-1 при експериментальній патології серця різного генезу», подану до спеціалізованої вченої ради Д 26.198.01 при Інституті фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за фахом 14.03.04 - патологічна фізіологія.

Актуальність теми дисертаційної роботи Гур'янової В.Л. зумовлена двома основними проблемами. По-перше, серцево-судинні захворювання складають важливу медико-соціальну проблему, а по-друге, проблема регуляції адаптації дорослого серця до стресових факторів є надзвичайно важливою не лише у контексті фундаментальних знань а й для розвитку нових підходів у діагностиці та лікуванні серцево-судинних захворювань. У цьому сенсі дослідження регуляторної функції мікроРНК – є надзвичайно актуальною та цікавою. МікроРНК-1 – є одним із ключових факторів у процесах розвитку, функціонування, а отже, і патології серця. Це дозволяє розглядати мікроРНК-1 як потенційну терапевтичну мішень у кардіології, проте результати досліджень, присвячених мікроРНК-1, часто суперечливі, що створює перешкоду на шляху до реалізації терапевтичного потенціалу мікроРНК-1. Мало досліджене і питання регуляції власне мікроРНК-1, хоча поодинокі публікації свідчать про складну систему транскрипційних та посттранскрипційних механізмів регуляції мікроРНК-1. Дослідження саме цього питання і є основною метою дисертанта, для чого проведено дослідження із залученням методів патологічної фізіології та молекулярної біології. Дисертантом проведена оцінка біогенезу мікроРНК-1 у кардіоміоцитах щура з використанням різних експериментальних систем та досліджено вплив ряду регуляторних факторів на цей процес. У побудові дослідження виявляється ідея дисертанта прослідкувати зміни рівня та активності біогенезу мікроРНК-1 при гострому ушкодженні кардіоміоцитів (досліди на культивованих кардіоміоцитах), при віддалених наслідках такого ушкодження (постінфарктне ремоделювання), а також при тривалій дії патогенного агенту, а саме – хронічного перевантаження серця опором та старіння, яке саме по собі є некорегованим фактором ризику серцево-судинної патології.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Роботу виконано в рамках наукової тематики відділу загальної та молекулярної патофізіології Інституту

фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України: «Системні та молекулярно-генетичні дослідження механізмів розвитку гіпертрофії та недостатності серця» (№ 01104004753), «Генетичні та епігенетичні механізми в регуляції вісцеральних функцій в нормі і при патології» (№11-3-12).

Наукова новизна, теоретичне та практичне значення отриманих результатів.

У роботі отримано нові дані, що підтверджують значні зміни посттранскрипційної регуляції мікроРНК-1 при експериментальній патології серця різного генезу. Автором вперше показано, що у культивованих кардіоміоцитах щура заглушення гену, що кодує 5-ліпоксигеназу, призводить до значного зменшення рівня зрілих мікроРНК-1 за рахунок пригнічення цитоплазматичного етапу їхнього дозрівання. Вперше було встановлено вплив протеасоми на різні форми дозрівання мікроРНК-1 як в культурі кардіоміоцитів, так і з використанням очищеної протеасомної фракції. Було встановлено, що комбінація старіння та артеріальної гіпертензії призводить до значного порушення дозрівання мікроРНК-1, що супроводжується зменшенням її рівня.

Отримані дисертантом дані мають цінність для розвитку фундаментальної біології, оскільки суттєво розширюють сучасну уяву про молекулярні механізми патологічних перебудов міокарду та висвітлюють роль мікроРНК у зазначених процесах. Практичне значення отриманих даних полягає в тому, що дане дослідження розкриває ряд важливих аспектів біології мікроРНК-1, що безперечно необхідне для реалізації її потенціалу як терапевтичної мішені при патології серця. Також було встановлено, що вплив таких факторів протекції як заглушення гену, що кодує 5-ліпоксигеназу, та застосування низьких доз інгібітору протеасоми має вплив на рівень та активність біогенезу мікроРНК-1, що дозволить розробити нові підходи до фармакологічної корекції серцевих порушень.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Наукові положення, викладені в дисертаційній роботі Гур'янової В.Л. обґрунтовані результатами проведених автором досліджень. Достовірність отриманих результатів базується на достатній кількості проведених експериментів і використанні відповідних методів статистичної обробки даних. Методичні підходи адекватні поставленим завданням, більш того, використання молекулярно-генетичних, цитологічних, імуногістохімічних методів досліджень поруч із патофізіологічними та стандартними цитологічними методами дало змогу провести глибокий та всебічний аналіз поставленої проблеми. Висновки роботи є логічними, аргументованими та базуються на отриманих результатах. Одержані результати мають

наукову новизну, практичну значущість та перспективу для подальшого розвитку наукових досліджень.

Структура та обсяг дисертації. Матеріал дисертаційної роботи викладений за класичним планом відповідно до вимог ДАК МОН України: має вступ, огляд літератури, матеріали та методи дослідження, результати власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів досліджень, висновки та список літератури (247 джерел). Робота викладена на 160 сторінках машинописного тексту. Отримані результати підсумовано у 37 таблицях та представлено на 56 рисунках.

У вступі висвітлюється актуальність і мета роботи, наукова новизна і практична значущість дослідження, особистий внесок автора дисертації. Результати досліджень повною мірою відображені в науковому друці і були неодноразово обговорені на наукових конференціях.

В розділі «Огляд літератури» наведено новітні дані про патогенез ушкодження серця, різноманітні механізми біогенезу та регуляції мікроРНК, проаналізовано дані щодо ролі мікроРНК-1 у різних аспектах біології та патології серця, в тому числі, наведено спектр основних генів-мішеней мікроРНК-1 із аналізом їх ролі у патогенезі ушкодження серця. В даному розділі обговорено достатню кількість літературних джерел за темою дисертаційної роботи. Огляд написаний літературною українською мовою, цікавий, легко читається і сприймається.

Другий розділ «Матеріали та методи» включає детальну інформацію про експериментальні моделі, що використані у роботі, ретельно описано усі застосовані у роботі методи – виділення та культивування кардіоміоцитів щура, моделювання інфаркту міокарда та постінфарктного ремоделювання серця, виділення РНК, аналіз рівня мікроРНК-1 на різних етапах її дозрівання за допомогою зворотної транскрипції та полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі, імуноцитохімічне дослідження, статистичний аналіз даних та інші. Високий методичний рівень дисертаційної роботи дає підстави вважати дослідження сучасним і високо інформативним, а результати - достовірними.

Розділ “Результати власних досліджень” містять інформацію про фактичні дані, що отримані автором. У розділі викладено результати дослідження процесингу мікроРНК-1 при аноксії–реоксигенації із використанням культивованих кардіоміоцитів щура. Наведено дані експериментів щодо стійкості кардіоміоцитів до модельованого стресу за умов спрямованого нокдауну та підвищеної експресії мікроРНК-1 та впливу інгібітору протеасоми на рівень мікроРНК-1 і виживаність кардіоміоцитів. Також у розділі

викладено і результати досліджень процесингу мікроРНК-1 із використанням сердець модельних щурів різних вікових груп та із експериментальним ураженням міокарду.

У розділі «Аналіз та узагальнення результатів» розглянуто та співставлено результати власних досліджень із даними інших авторів щодо участі мікроРНК-1 у розвитку патології серця. Автором узагальнено та структуровано фактичний матеріал, наведений у попередніх розділах, та зроблено логічні висновки, що повністю випливають із результатів.

У «Висновках» дисертант формулює основні наукові надбання у 8 положеннях. Висновки конкретні, відповідають поставленим завданням і витікають із одержаних експериментальних результатів.

У «Списку використаних джерел» наведено 247 посилань на наукові роботи вітчизняних та закордонних авторів, що даються у алфавітному порядку, з них 7 кирилицею, 240 – латиницею.

Новизна і якість використаних для дослідження методів, репрезентативність отриманих результатів. Наукові результати, покладені в основу дисертаційної роботи, одержано із використанням широкого спектру відповідних сучасних методів та значної кількості експериментального матеріалу. Здобувачем особисто проведено серію молекулярно-генетичних експериментів для вивчення біогенезу мікроРНК-1 при експериментальній патології міокарду як із використанням культури ізольованих кардіоміоцитів так і з використанням модельних тварин. Виконано статистичний аналіз отриманих даних. Частина експериментальної роботи та теоретичний аналіз даних було проведено спільно із співробітниками відділу загальної та молекулярної патофізіології Інституту фізіології імені О.О. Богомольця АН України, які є співавторами опублікованих робіт.

Методичний рівень роботи високий і адекватний поставленим завданням, що підтверджує достовірність представлених результатів. Використання різноманітних методів статистичного аналізу дозволило всебічно проаналізувати отримані дані та виявити нові факти, які мають важливе значення для фундаментальних досліджень, що підтверджується і оприлюдненням результатів на численних наукових форумах.

Повнота викладення здобувачем основних результатів в опублікованих працях та у авторефераті. За матеріалами дисертації автором опубліковано 12 наукових праць - 5 статей та 7 тез доповідей. Друковані праці відображають зміст дисертаційного дослідження. Основні положення роботи достатньо апробовані на симпозиумах та конференціях. Автореферат дисертації відповідає змісту, основним положенням і найважливішим результатам дисертаційної роботи. Основні положення дисертаційної

роботи Гур'янової В.Л. знайшли ґрунтовне і логічне відображення в авторефераті, який повністю відповідає змісту дисертації.

Зауваження.

При загальному дуже позитивному враженні від послідовності і повноти викладення матеріалу, а також стилю написання дисертації, зустрічаються деякі технічні помилки та невдалі вислови, наприклад – «кондиційний нокаут гену» тоді як більш коректним є термін «умовний нокаут гену». Окрім того, хочу звернути увагу на те що обсяг розділу «Огляд» дещо перевищує рекомендованих ВАК 20 % від загального обсягу дисертаційної роботи. Однак, усі ці зауваження не мають принципового значення і не зменшують наукову та практичну цінність результатів роботи.

В порядку дискусії було б бажано отримати відповіді на наступні питання:

- 1) Чи відомо із літературних джерел або ваших власних даних про регуляцію рівня експресії гіпертрофічних або фетальних генів мікроРНК-1?
- 2) Які на Вашу думку молекулярні механізми лежать у основі феномену порушення локалізації коннексину 43 у кардіоміоцитах після застосування інгібітору мікроРНК-1?

ЗАКЛЮЧЕННЯ.

Дисертаційна робота Гур'янової В.Л. «МікроРНК-1 при експериментальній патології різного генезу», подана до спеціалізованої вченої ради Д 26.198.01 при Інституті фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за фахом 14.03.04 - патологічна фізіологія, є завершеним науковим дослідженням, у якому автор із використанням сучасних методів отримав нові дані про особливості регуляції біогенезу мікроРНК-1 у різних експериментальних моделях патології серця, оцінив її вплив на виживаність культивованих кардіоміоцитів, а також довів вплив протеасоми та 5-ліпоксигенази на її рівень. Тема роботи, об'єкт та предмет дослідження, її зміст, а також основні положення та висновки відповідають паспорту спеціальності 14.03.04 – патологічна фізіологія. У дисертаційній роботі містяться раніше не захищені наукові положення.

Таким чином, на підставі аналізу дисертації Гур'янової В.Л., автореферату дисертації, публікацій дисертанта у фахових наукових виданнях можна зробити висновок що за своєю актуальністю, науковим і практичним значенням, глибиною і обсягом досліджень, змістом та оформленням робота повністю відповідає вимогам ДАК України

щодо дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук, зокрема пп. 9, 11, 12, 13 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567 про присудження наукових ступенів стосовно дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата наук, а її виконавець, Гур'янова Вероніка Леонідівна, заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 - патологічна фізіологія.

Офіційний опонент:

старший науковий співробітник
відділу генетики людини ІМБГ НАН України
кандидат біологічних наук,
старший науковий співробітник



Півень О.О.

