

## ВІДГУК

**офіційного опонента 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. не викликає сумнівів – серцево-судинні захворювання є однією з пріоритетних проблем сучасного суспільства та сучасної науки, а питання регуляції мікроРНК активно досліджується багатьма лабораторіями світу. МікроРНК-1 вважається 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 багатокомпонентне 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 агента, а саме – хронічного перевантаження серця опором та старіння, яке саме по собі є неконтрольованим фактором ризику серцево-судинної патології.

**Наукова новизна 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 заглишення 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.

**Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.** Отримані наукові положення і висновки обґрунтовані достатнім обсягом експериментальних, молекулярно-генетичних, цитологічних, імуногістохімічних досліджень та результатами статистичного аналізу отриманих даних. Досліди проведено як в культурі неонатальних кардіоміоцитів щура, так і *in vivo*. Висновки роботи є логічними, аргументованими та базуються на отриманих результатах.

**Якість використаних для дослідження методів, репрезентативність отриманих результатів.** Робота виконана на високому сучасному методичному рівні із використанням значної кількості експериментального матеріалу та цілого ряду молекулярно-біологічних методів. Достатній об'єм проаналізованого матеріалу та застосування цілого комплексу методів статистичного аналізу дозволили вирішити поставлені завдання, зробити логічні висновки, що витікають із проведеного дослідження.

**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.

**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).

**Загальна характеристика роботи.** Дисертація традиційно складається із вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків та списку літератури (247 джерел), викладена на 160 сторінках машинописного тексту. Отримані результати підсумовано у 37 таблицях та представлено на 56 рисунках. В огляді 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. Розділ «Матеріали та методи» включає 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. Розділ «Результати власних досліджень» містять інформацію про фактичні дані, що отримані автором. Результати цього розділу поділено на 8 частин, в яких повністю викладено результати дослідження. Розділ «Аналіз та узагальнення результатів» дозволяє автору структурувати та узагальнити фактичний матеріал, наведений у попередніх розділах, та зробити логічні висновки, що повністю впливають із результатів.

**Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях та у авторефераті.** За темою 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 дисертації знайшли ґрунтовне і логічне відображення в авторефераті, який повністю відповідає змісту дисертації.

#### **Зауваження.**

Оцінюючи в цілому дисертаційне дослідження позитивно, слід зазначити, що серйозних недоліків, що ставлять під сумнів одержані дисертанткою основні висновки, дисертаційна робота не містить, але у ній наявні деякі моменти дискусійного характеру:

1. Так, наприклад, не зрозуміло чому для вивчення впливу аноксії в роботі були використані саме неонатальні, а не дорослі клітини міокарду. Добре відомо що вони споживають більше глюкози і є менш чутливими до недостатньої кількості кисню, ніж дорослі клітини.

2. Добре відомо, що найбільш надійним методом ідентифікації апоптотичних клітин є виявлення каспазозалежної олігонуклеосомної деградації хроматину при збереженні цілісності мембранних структур клітин. Чому для ідентифікації апоптотичних клітин не були використані методи вивчення, наприклад, експресії білків p53, bcl-2 та ін.? Для чого в розчині для виділення міокардіоцитів в умовах нормоксії присутній 20 мМ HEPES? Чому в роботі при моделюванні гіпоксії відсутній полярографічний контроль рівня напруження кисню?

3. Хоча дисертант велику увагу приділяє процесам дозрівання мікроРНК-1, відсутні дані щодо рівня факторів, що забезпечують цей процес (дайсер, дроша, тощо).

4. Дисертант як у огляді літератури, так і при аналізі та узагальненні результатів зазначає, що мікроРНК-1 має багато важливих генів-мішеней, проте у своїх експериментальних дослідженнях зосереджується саме на коннексині 43. Не зовсім зрозуміло, чим зумовлено саме цей вибір і чи бачить дисертант сенс досліджувати інші гени-мішені.

5 Для підтвердження результатів, отриманих у культивованих кардіоміоцитах, було б доцільно дослідити вплив ішемії-реперфузії *in vivo* на рівень та активність дозрівання мікроРНК-1.

6. Для чого був потрібен розділ 1.8.3 про роль мікроРНК в регуляції електрофізіологічних характеристик серця, якщо в роботі вони не вивчались?

7. На мій погляд у роботі був би не зайвий висновок щодо відмінностей в рівні мікроРНК-1 і коннексину 43 у старих нормотензивних та старих гіпертензивних щурів.

Викладені зауваження та запитання не мають принципового характеру та не знижують позитивної оцінку дисертації в цілому, а також розроблених автором основних наукових положень, висновків та одержаних результатів досліджень.

### **ВИСНОВОК**

Дисертаційна робота Гур'янової В.Л. «МікроРНК-1 при експериментальній патології різного ґенезу», 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 -

Завідувач відділу експериментальної терапії ДУ  
«Інститут фармакології та токсикології  
НАМН України»,  
доктор медичних наук, професор



А.І. Соловійов

Підпис проф. Соловійова А.І. засвідчую:

Вчений секретар Державної установи «Інститут  
фармакології та токсикології НАМН України»  
к.ф.н. А. А. Царенко

