

## РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу ХЕЦУРІАНІ Михайла «ЗМІНИ ЕКСПРЕСІЇ ДОВГИХ НЕКОДУЮЧИХ РНК, ЗАЛУЧЕНИХ ДО ГІПОКСИЧНОЇ ПРОГРАМИ, ПРИ ШЕМІЧНОМУ УШКОДЖЕННІ СЕРЦЯ», що подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія та біохімія» до спеціалізованої вченої ради ІД 6198 Інституту фізіології ім. О. Богомольця.

### **Актуальність теми.**

Серцево-судинні захворювання вже протягом тривалого часу займають перше місце у структурі смертності населення не тільки в Україні, а й в цілому світі, включаючи розвинені країни. Враховуючи недосконалість системи медичної статистики в Україні, точно оцінити поширеність серцево-судинних захворювань, зокрема артеріальної гіпертензії, важко, проте розрахункові показники ресурсу Global Burden of Diseases (<https://vizhub.healthdata.org/gbd-compare/>) свідчать, що щороку в Україні смертність від серцево-судинних захворювань складає 1022 на 100 000 населення, а показник років життя, втрачених через смерть або непрацездатність – 18 857 втрачених років на 100 000 років у всього населення України.

Ішемічна хвороба серця – провідне захворювання у структурі серцево-судинної патології, в основі якого лежить патологічний процес гіпоксія. Не зважаючи на те, що гіпоксія має дуже тривалу історію вивчення, пошук нових маркерів її перебігу, ефективності лікування, а також потенційних шляхів терапевтичного впливу лишається надзвичайно актуальним в усьому світі. В цьому контексті цікавим є дослідження молекул, що відносно нещодавно почали активно вивчатися в рамках не тільки молекулярно-біологічних, а й клінічних досліджень, – довгих некодуєчих РНК. Ці представники некодуєчих РНК мають велике різноманіття, та для багатьох з них ще досі не описані молекулярні функції, і тим більше, фізіологічні процеси, у регуляцію яких вони залучені. Відтак, дослідження рівнів експресії некодуєчих РНК у зв'язку з гіпоксією є цікавим та перспективним напрямком.

**Зв'язок роботи з державними науковими програмами, темами, планами.** Дисертаційна робота виконана в рамках відомчих тем науково-дослідної роботи Відділу загальної та молекулярної патофізіології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України: «Значення довгих некодуєчих РНК в механізмах розвитку експериментальної та клінічної патології» (державний реєстраційний номер — 0118U007348, 2019-2023 рр.), «Дослідження механізмів ремоделювання міокарда в патогенезі розвитку серцевої недостатності та її корекції» (державний реєстраційний номер — 114U007233, 2015-2018 рр.), а також за цільовою програмою «Підтримка пріоритетних для держави наукових досліджень і науково-технічних (експериментальних) розробок відділення біохімії, фізіології і молекулярної біології НАН України (реєстраційний номер 0120U101281, 2021р.).

### **Повнота виконання.**

Результати, описані у дисертаційній роботі, викладені у семи наукових публікаціях у фахових періодичних виданнях, включаючи три українські публікації та чотири закордонних. Результати були також апробовані виступами на вісьми фахових конференціях. Висновки біоетичного комітету та наявність інформованої згоди пацієнтів, залучених у дослідження, зазначені у дисертаційній роботі.

### **Наукова новизна.**

Особливістю даної роботи є те, що дослідження довгих некодуючих РНК при патогенезі гіпоксії, ішемічної хвороби серця та інфаркту міокарда виконане вперше в Україні, наскільки відомо рецензентові. Крім того робота проведена не тільки на культурі клітин та лабораторних тваринах із патологічними моделями, а й на унікальному людському матеріалі, зокрема на біоптатах міокарду пацієнтів, що зазнали хірургічного втручання аорто-коронарне шунтування з та без віддаленого ішемічного прекодиціонування. Нарешті частиною роботи є і довготривале спостереження за літніми особами, в яких рівень експресії довгої некодуючої РНК H19 виявився предиктором смертності від усіх причин.

Зокрема, у дисертаційній роботі вперше показане зниження експресії довгих некодуючих РНК H19, TUG1, MIAT та GAS5 у кардіоміоцитах неонатальних щурів за умов аноксії-реоксигенації. При додаванні у культуру клітин інгібітора HIF-проліл гідроксилази рівень експресії довгих некодуючих РНК H19 та TUG1 підвищується, а MIAT — знижується. Виявлено, що при моделюванні інфаркту міокарда рівень експресії lncRNA H19 знижується, а TUG1 та MIAT — збільшується у міокарді та плазмі крові щурів. У роботі досліджені особливості експресії довгих некодуючих РНК H19, MIAT, HIF1A-AS1, LIPCAR, MHRT у пацієнтів із ішемічною хворобою серця. Показано, як змінюється експресія зазначених довгих некодуючих РНК у міокарді, лейкоцитах та плазмі крові за умов віддаленого ішемічного прекодиціонування у пацієнтів, яким проводили операцію аортокоронарного шунтування. Вперше проведено дослідження експресії довгих некодуючих РНК H19, MIAT, HIF1A-AS1, LIPCAR, MHRT на великій вибірці здорових літніх осіб.

### **Ступінь обґрунтування висновків.**

Мета та завдання роботи логічно пов'язані з висновками. Методи, використані у роботі є обґрунтованими та логічними по відношенню до завдань дослідження. Отримані результати також є логічно пов'язаними та достатніми для сформованих висновків.

### **Теоретичне та практичне значення.**

Цінність lncRNAs як діагностичних маркерів полягає у високій інформативності цих молекул вже на початку патологічних змін, які не можуть бути визначеними за допомогою наявних лабораторних та інструментальних досліджень. З огляду на величезну кількість lncRNAs, широкий спектр їх функцій, а також основні положенням теорії «Світу РНК», можна припустити, що зміни в експресії саме некодуючих РНК є першим адаптивним кроком, за яким вже йде ланцюжок інших перетворень. Визначення особливостей експресії довгих некодуючих РНК H19,

TUG1, MIAT та GAS5 у щурів дає розуміння більш глибоких молекулярних механізмів, які лежать в основі ішемічного ушкодження міокарда. Отримані дані можуть бути використані для проведення подальших досліджень із інтерференцією або надекспресією зазначених довгих некодуючих РНК. Результати дисертаційної роботи можуть бути використані для написання методичної, освітньої літератури для навчальних закладів медичного та біологічного профілю. Крім того, результати роботи можуть бути використані для обґрунтування можливого застосування інформації про довгі некодуючі РНК у клінічній практиці. Результати дослідження із визначення експресії довгих некодуючих РНК H19, MIAT, HIF1A-AS1, LIPCAR, MHRT у пацієнтів із ішемічною хворобою серця та у здорових пацієнтів похилого віку можуть бути використані для пошуку нових маркерів для діагностики та лікування серцево-судинних захворювань. Відомості про lncRNA H19 як незалежного предиктора смерті у осіб похилого віку, можуть бути використані для визначення груп ризику серед літніх людей. Таким чином, отримані результати дисертаційної роботи мають як теоретичне, так і практичне значення.

### **Структура і обсяг дисертації.**

Дисертаційна робота викладена на 141-й сторінці. Список літератури є сучасним та відповідає темі роботи. Усі необхідні розділи присутні у дисертаційній роботі та розташовані у логічній і коректній послідовності.

### **Запитання та зауваження.**

1. «Більшість проведених досліджень показують, що lncRNAs, на відміну від мРНК, коротші та мають значно менше екзонів [18-20]. Так, близько 42% усіх lncRNAs мають у своєму складі лише 2 екзони [21]». Чи правильніше тут було казати про гени, що кодують lncRNAs?
2. Mirt1 та Mirt2 (Myocardial infarction-associated transcript 1 та 2). Чи має тут бути «infarction-related»? Чи яка тоді різниця з MIAT?
3. Чому саме такі довгі некодуючі РНК, як H19, TUG1, GAS5 ТА MIAT, були обрані для дослідження у культурі кардіоміоцитів неонатальних щурів? «Аналіз даних літератури, а також баз даних DIANA LncBase та DeepBase V.3.0 дав змогу визначити ряд таких lncRNAs, з поміж яких було обрано 4 – H19, TUG1, GAS5 та MIAT» - за яким принципом?
4. За рахунок чого відбувалося збільшення експресії мРНК фактору, що індукується гіпоксією, при стабілізації цього білка в умовах нормоксії?
5. Чому не було окремої групи з ішемічним прекодиціонуванням в дослідях на клітинах чи на щурах?
6. Варто було б провести порівняння експресії довгих некодуючих РНК не тільки між пацієнтами, що проходили віддалене ішемічне прекодиціонування з такими, які не проходили, а й з контрольною групою.
7. «...рівень ампліфікації яких не перевищує 30 Ct мінімум у 40% зразків». Чим обумовлений такий критерій? Чому, наприклад, не шукали таку довгу некодуючу РНК, рівень експресії якої нижче певного порогу?

**Висновок.**

Зазначені зауваження не знижують якість роботи, не впливають на кінцевий результат. Дисертаційна робота Михайла Хецуріані «Зміни експресії довгих некодуючих РНК, залучених до регуляції гіпоксичної програми, при ішемічному ушкодженні серця», що подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії відповідає всім критеріям та стандартам, встановлених порядком присудження ступеню доктора філософії, як зазначено постановою Кабінету Міністрів України №44 від 12 січня 2022 року, нормам публікації дисертаційних робіт за наказом МОН України №1220 від 23 вересня 2019 року, а також вимогам до оформлення дисертацій за наказом за наказом МОН України №40 від 12 січня 2017 року. Її зміст та практичне значення повною мірою відповідають науковій спеціалізації 091 «Біології та біохімія» у межах освітньо-наукової програми «Біологія (біофізика, фізіологія людини та тварин, патологічна фізіологія)», що є частиною третього рівня вищої освіти Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, а її автор Михайло Хецуріані заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія та біохімія».

Рецензент:

Василь Нагібін, к.м.н., ст.н.с.

відділу загальної та молекулярної патофізіології  
Інститут фізіології ім. О. Богомольця НАН України  
nagibin@biph.kiev.ua.

