

ВІДГУК

професора кафедри медико-біологічних дисциплін Національного університету фізичного виховання і спорту України, доктора біологічних наук, професора Дроздовської Світлани Богданівни

на дисертаційну роботу

Михайла ХЕЦУРІАНІ

«Зміни експресії довгих некодуючих РНК, залучених до регуляції гіпоксичної програми, при ішемічному ушкодженні серця»,
представлену на спеціалізовану вчену раду ID 6198 Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України для розгляду та проведення разового захисту дисертації на здобуття ступеня доктора філософії у галузі - 09 «Біологія» зі спеціальності - 091 «Біологія та біохімія»

Актуальність вибраної теми дисертації. Актуальність теми дослідження, представленого в дисертації Михайла Хецуріані, обумовлена високим рівнем смертності та інвалідності, пов'язаних з серцево-судинними захворюваннями, які залишаються одними з провідних причин загибелі в усьому світі. Гіпоксія, як один з ключових патогенетичних факторів, викликає низку змін на молекулярному рівні, що обумовлюють розвиток ішемічних ушкоджень серця. Важливу роль у цьому процесі відіграє фактор, що індукується гіпоксією (hypoxia-inducible factor, HIF), який активує транскрипцію генів, що сприяють адаптації та виживанню в умовах низької концентрації кисню.

Результати дисертаційної роботи — важливий доробок до розуміння молекулярних механізмів розвитку ішемічних ушкоджень серця на рівні регуляції довгими некодуючими РНК. Цей клас некодуючих РНК сьогодні активно вивчається, зокрема в контексті серцево-судинних захворювань. Ці молекули можуть слугувати як потенційні біомаркери для ранньої діагностики та оцінки ризику розвитку серйозних ускладнень. Зокрема, у

дисертаційній роботі Михайла Хецуріані показано, що підвищена експресія довгої некодуючої РНК H19 розглядається як потенційний маркер підвищеного ризику смерті, що підтверджено дослідженням на великій когорті пацієнтів. Крім того, згідно результатів досліджень, наведених у дисертаційній роботі, в якості потенційних маркерів ішемічної хвороби серця можуть розглядатися довгі некодуючі РНК H19, HIF1A-AS1 та LIPCAR.

Таким чином, дисертація спрямована на вирішення актуальних питань сучасної науки та медицини, що вказує на актуальність виконаних досліджень.

Наукова новизна отриманих результатів. Наукова новизна дисертаційної роботи полягає в комплексному підході до вивчення ролі довгих некодуючих РНК в патологічних процесах серця, зокрема в умовах гіпоксії та ішемічних ушкоджень. Вперше були виявлені зміни експресії довгих некодуючих РНК H19, TUG1, MIAT і GAS5 в кардіоміоцитах неонатальних щурів під впливом аноксії-реоксигенації. Результати свідчать про зниження рівня експресії цих РНК в умовах аноксії-реоксигенації, що вказує на їх можливу роль у процесах адаптації клітин до нестачі кисню.

Використання інгібітора HIF-пролілгідроксилази в культурі клітин продемонструвало, що експресія H19 і TUG1 зростає, тоді як MIAT зменшується, що підкреслює складність регуляторних механізмів, задіяних в гіпоксичних умовах. Це відкриває нові перспективи для терапевтичного втручання.

Дослідження, проведене на моделях інфаркту міокарда у щурів Wistar, також вперше показало, що експресія довгої некодуючої РНК H19 знижується, а TUG1 і MIAT підвищується як в міокарді, так і в плазмі крові. Це відкриття підкреслює значущість довгих некодуючих РНК як

потенційних біомаркерів для ранньої діагностики серцево-судинних захворювань.

Важливим аспектом роботи є встановлення кореляційних зв'язків між рівнем експресії довгих некодуючих РНК H19, TUG1, MIAT і GAS5 та кардіогемодинамічними показниками, такими як кінцево-сistolічний та кінцево-діастолічний тиск, ізовольюмічна константа розслаблення Tau W, dP/dT_{max} і ударна робота серця. Ці дані свідчать про потенційний вплив довгих некодуючих РНК на серцево-судинну функцію і відкривають нові шляхи для подальших досліджень.

Окрім експериментальних моделей, в дисертації вивчено особливості експресії довгих некодуючих РНК H19, MIAT, HIF1A-AS1, LIPCAR і MHRT у пацієнтів з ішемічною хворобою серця, що проходили процедуру аортокоронарного шунтування. Вперше продемонстровано, що довга некодуюча РНК H19 є незалежним предиктором ризику смерті у літніх пацієнтів, що має велике значення для клінічної практики, оскільки дозволяє ідентифікувати групи ризику та вдосконалити стратегії лікування та профілактики серцево-судинних захворювань.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень та висновків дисертаційної роботи. Дисертаційна робота Михайла Хецуріані «Зміни експресії довгих некодуючих РНК, залучених до гіпоксичної програми, при ішемічному ушкодженні серця» базується на комплексному підході до дослідження, використанні сучасних методів аналізу та відповідній обробці отриманих даних. Для досягнення цілей дослідження були застосовані перевірені експериментальні моделі як на культурі клітин, так і на на тваринах. Зокрема, це аноксія/реоксигенація первинної культури кардіоміоцитів неонатальних щурів, модель інфаркту міокарда та ішемії/реперфузії дорослих щурів. Експериментальні моделі

дозволили на різних рівнях вивчити вплив гіпоксичних умов на експресію довгих некодуючих РНК.

Використання сучасних молекулярно-біологічних методів, таких як полімеразна ланцюгова реакція в реальному часі (RT-PCR), забезпечило високу точність і надійність вимірювань рівнів експресії РНК. Крім того, застосування статистичних методів, таких як однофакторний та двофакторний ANOVA, кореляційний аналіз Пірсона, а також регресійний аналіз з пропорційними ризиками Кокса, дало можливість обґрунтовано інтерпретувати отримані дані та зробити достовірні висновки.

Обґрунтованість наукових положень підтверджується високим ступенем відтворюваності результатів, які були отримані на різних експериментальних моделях та частково підтвержені на клінічних зразках пацієнтів з ішемічною хворобою серця. Крім того, проведення дослідження на великій вибірці пацієнтів дозволило зробити статистично значущі висновки про роль довгих некодуючих РНК у патогенезі серцево-судинних захворювань.

Комплексний підхід до дослідження, використання передових методик та належна обробка даних забезпечили високу ступінь достовірності та обґрунтованості наукових положень і висновків дисертаційної роботи, що робить її цінним внеском у сучасну науку.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота Михайла Хецуріані була виконана в межах відомчих тем науково-дослідних робіт відділу загальної та молекулярної патофізіології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. Зокрема, робота є частиною проекту «Значення довгих некодуючих РНК у механізмах розвитку експериментальної та клінічної патології» (державний реєстраційний номер — 0118U007348, 2019-2023 рр.). Крім

того, дослідження виконувалося в рамках проекту «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.).

Структура і обсяг дисертації, оцінка її завершеності та відповідності встановленим вимогам. Дисертаційна робота Михайла Хецуріані створена у відповідності до загальноприйнятих вимог Міністерства освіти і науки України. Рукопис складається зі 141 сторінки друкованого тексту, містить анотації українською та англійською мовами, вступ, огляд літератури, розділ із описом методів дослідження, розділ з описом власних досліджень, розділ аналізу та узагальнення результатів, висновки, список використаних джерел, а також два додатки. У роботі представлено 22 рисунки та таблиці, а список літератури налічує 189 джерел.

У вступі розглядається актуальність проблематики, вирішення якої є основною метою дисертаційного дослідження. Чітко прописана актуальність, визначено мету та завдання дослідження, відзначено її зв'язок із загальним планом наукової діяльності відділу загальної та молекулярної патофізіології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. Автор обґрунтовано висвітлив наукову новизну, теоретичну та практичну значущість роботи.

Огляд літератури викладений на 22 сторінках. У ньому міститься інформація про властивості, функції та класифікацію довгих некодуючих

РНК. Значна увага приділена ролі окремих довгих некодуючих РНК у реалізації патогенетичних змін у серцево-судинній системі. В огляді літератури також висвітлені особливості та функції довгих некодуючих РНК, зокрема і їх залученості до HIF-сигнального шляху. Крім того, наведено інформацію про можливості застосування довгих некодуючих РНК як біомаркерів серцево-судинних захворювань і терапевтичних мішеней. Літературний огляд дисертації повністю відповідає меті та завданням дослідження.

Використані у дослідження матеріали та методи детально прописані у **розділі 2**. Автор докладно описав модель аноксії-реоксигенації, методи визначення некротичних та апоптотичних клітин, а також виділення РНК, проведення зворотної транскрипції та полімеразної ланцюгової реакції для визначення рівня експресії цільових молекул.

Детально описані методики моделювання гострого інфаркту міокарда та ішемії-реперфузії у щурів із подальшим визначенням кардіогемодинамічних та морфологічних параметрів. Також описано методику віддаленого ішемічного прекодиціонування у пацієнтів з ішемічною хворобою серця, які проходили операцію аортокоронарного шунтування.

Розділ із результатами досліджень та їх обговоренням (Розділ 3) складається з чотирьох підрозділів та викладений на 45 сторінках. У розділі висвітлені основні результати роботи. У першому підрозділі проаналізовано рівні експресії lncRNAs H19, TUG1, GAS5 та MIAT, а також ступінь виживаності клітин у первинній культурі кардіоміоцитів неонатальних щурів в умовах аноксії/реоксигенації. Виявлено можливу роль HIF-1 α у регуляції експресії lncRNAs H19 та TUG1 при додаванні інгібітора HIF-проліл гідроксилази. Другий підрозділ представляє

результати щодо кардіогемодинамічних і морфологічних змін та експресії lncRNAs у моделі хронічного інфаркту міокарда. У третьому підрозділі досліджуються зміни кардіогемодинаміки та експресії lncRNAs у моделі ішемії-реперфузії міокарда. Четвертий підрозділ присвячений оцінці рівня експресії lncRNAs у пацієнтів з ішемічною хворобою серця та інфарктом міокарда, а також змінам експресії lncRNAs після процедури віддаленого ішемічного прекодиціонування перед операцією коронарного шунтування. Крім того, у четвертому підрозділі також висвітлені результати дослідження експресії lncRNAs на великій когорті пацієнтів похилого віку, де встановлено, що підвищена експресія lncRNA H19 розглядається як маркер підвищеного ризику смерті.

Аналіз і узагальнення результатів дослідження (Розділ 4) містить підсумковий аналіз, де дисертант узагальнює результати роботи та висвітлює нерозв'язані питання і можливі напрями для майбутніх досліджень.

Робота завершується висновками які повністю відповідають поставленим цілям і завданням дослідження.

Повнота викладу матеріалів дисертації в наукових публікаціях. Результати дисертаційної роботи викладені у 7 статтях. З них 5 — у фахових виданнях України, що включені до науково-метричної бази Scopus, та 2 — у міжнародних виданнях, віднесених до першого та другого квартилю (Q1, Q2). Частина результатів роботи викладена у 4 тезах. Також результати дисертаційного дослідження автором були обговорені на українських та закордонних конференціях та симпозіумах.

Запитання до дисертанта.

1. У роботі наведена модель аноксії-реоксигенації первинної культури кардіоміоцитів. На думку автора, що саме призводить до змін експресії довгих некодуючих РНК за цієї моделі – аноксія чи реоксигенація?
2. На експериментальних моделях спостерігається зниження експресії довгої некодуючої РНК H19 за умов ішемічного ушкодження. При цьому у пацієнтів при патології спостерігається збільшення експресії цієї РНК. Як це можна пояснити?
3. Довгі некодуючі РНК, експресія яких визначалася у пацієнтів. Вони є кардіоспецифічними чи експресуються і у інших тканинах?

Зауваження до дисертації.

1. У тексті зустрічаються у невеликій кількості орфографічні, пунктуаційні та технічні помилки.
2. У розділі 2 (Матеріали та методи досліджень) вказано не весь перелік праймерів та зондів (бракує послідовності праймеру для бета-актину).
3. У розділі 4 (Аналіз та узагальнення результатів дослідження) бракує інформації від автора стосовно спільної можливої ролі довгих некодуючих РНК H19 та MIAT у тварин та людей.

Проте ці питання та зауваження є дискусійними. Вказані дрібні недоліки дисертаційної роботи абсолютно не знижують позитивної оцінки проведеного дослідження, його наукової та практичної значимості.

Загальний висновок. Дисертаційна робота Михайла Хецуріані «Зміни експресії довгих некодуючих РНК, залучених до гіпоксичної програми, при ішемічному ушкодженні серця», подана на здобуття наукового ступеня доктора філософії, за рівнем наукової значущості та

практичної цінності, змістовним наповненням та оформленням повністю відповідає вимогам чинного законодавства України. Вона відповідає критеріям, визначеним у Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти чи наукової установи, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 року № 44. Робота також відповідає вимогам щодо публікації результатів дисертацій на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук, визначеним наказом Міністерства освіти і науки України № 1220 від 23 вересня 2019 року, та вимогам до оформлення дисертацій, затвердженим наказом МОН України № 40 від 12 січня 2017 року. Дисертація повністю відповідає напрямку наукових досліджень третього освітньо-наукового рівня вищої освіти в Інституті фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України в галузі 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія та біохімія». Автор дисертації, Хецурані Михайло, заслуговує присудження ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 — «Біологія та біохімія».

Опонент

професор кафедри медико-біологічних
дисциплін Національного університету
фізичного виховання і спорту України,
доктор біологічних наук, професор

Світлана ДРОЗДОВСЬКА

Підпис Дроздовської С.Б. засвідчую
Проректор з науково-педагогічної роботи
Національного університету фізичного
виховання і спорту України
доктор наук з фізичного виховання і спорту,

професор



Ольга БОРИСОВА