

## ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

*Лапікова-Бригінської Тетяни Юрївни*

«РОЛЬ ІНСУЛІНОПОДІБНОГО ФАКТОРУ РОСТУ 1 (IGF-1)  
У МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИХ МЕХАНІЗМАХ РОЗВИТКУ  
ГІПЕРТРОФІЇ МІОКАРДА»,

що подана до спеціалізованої вченої ради Д 26.198.01 при Інституті фізіології  
імені О.О. Богомольця для здобуття наукового ступеня кандидата  
біологічних наук за спеціальністю

03.00.13 –фізіологія людини і тварин.

### **Актуальність теми дисертаційної роботи.**

Дисертація Тетяни Лапікова-Бригінської «Роль Інсуліноподібного фактору росту 1 (IGF-1) у молекулярно-генетичних механізмах розвитку гіпертрофії міокарда», що подана на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук, спрямована на дослідження механізмів розвитку гіпертрофії міокарда, що є визнаним фактором ризику серцево-судинних захворювань.

Гіпертрофія міокарда є незалежним фактором ризику виникнення артеріальної гіпертензії, ішемічної хвороби серця, інсульту, гострої або хронічної серцевої недостатності, шлуночкових порушень ритму, раптової смерті та збільшує серцево-судинну летальність у декілька разів, що обумовлює актуальність проведених досліджень. Автором вперше одержано важливі наукові результати, які детально характеризують роль в гіпертрофії міокарда молекулярно-генетичних механізмів, опосередкованих інсуліноподібним фактором росту-1 (IGF-1), вказують на нові аспекти його регуляції мікроРНК-1 в залежності від стадії розвитку гіпертрофії. Виявлено, що розвиток і зворотній розвиток термінової гіпертрофії, викликані адренергічним впливом, асоційовані зі змінами експресії гена та білка IGF-1. В роботі Т.Ю. Лапікова-Бригінська вперше охарактеризувала

охарактеризовано гальмівні механізми підтримання сталої гіпертрофії, пов'язані з обмеженням експресії гена та білка IGF-1.

Також, вперше досліджено онтогенетичні зміни експресії генів та білків у нормотензивних та гіпертензивних щурів та їх зв'язок з порушенням функції серця. На підставі одержаних результатів зміни структури та функції серця у спонтанно-гіпертензивних щурів при старінні запропоновано розглядати як модель розвитку серцевої недостатності.

У літературі є обмежена кількість інформації стосовно проявів та механізмів гіпертрофічних перетворень міокарда в 1-2 термінах експерименту, що не дозволяє охарактеризувати перебіг процесу, послідовність та регуляцію ключових молекулярних механізмів, вирізнити можливості зворотного розвитку гіпертрофії, що важливо для клінічної медицини.

Сукупність наведених результатів дозволяє охарактеризувати їх як такі, що є новими.

В зв'язку з цим можна з упевненістю сказати, що ця дисертаційна робота є актуальним дослідженням, присвяченим важливій науковій проблемі – дослідженню регуляторного впливу IGF-1 на розвиток гіпертрофії серця.

**Зв'язок теми дисертації з державними, галузевими науковими програмами.** Дисертація виконувалась в рамках тем НДР 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 регуляції вісцеральних функцій в нормі і при патології» (№ 11-3-12). «Дослідження механізмів ремоделювання міокарда в патогенезі розвитку серцевої недостатності та її корекції» (№ держреєстрації 0114U007233) та лабораторії молекулярної біології МЦ АМЕД НАНУ «Молекулярні механізми цитопротекції та гіпертрофії міокарду при гіпоксичному ремоделюванні» (№ держреєстрації

0108U011157), «Роль мікроРНК в регуляції клітинної та метаболічної адаптації при впливі гіпоксії» (№ держреєстрації 0117U004053).

**Обґрунтованість положень, висновків, рекомендацій сформульованих у дисертації, їх достовірність і новизна, повнота викладення в опублікованих роботах.**

Дисертаційна робота Т.Ю. Лапікова-Бригінської є повноцінною науковою, завершеною працею. Дисертація характеризується глибоким розкриттям досліджуваної проблеми, самостійністю у підходах до їх висвітлення, ґрунтовною практичною перевіркою отриманих результатів, їх суттєвою теоретичною і практичною значущістю. Автор детально проаналізував сучасний стан проблеми, опрацювавши близько 200 літературних джерел, сформульовано проблематику з досліджень ролі інсуліноподібного росту-1 у молекулярному механізмі розвитку гіпертрофії серця, поставлено мету і завдання. Для виконання поставлених задач, автором було використано сучасні методики, що дозволили отримати дані на кількох рівнях: молекулярному, клітинному, органному. Використано коректні методи статистичної обробки даних, що дало можливість сформулювати адекватні висновки стосовно ролі IGF-1 в регуляції розвитку ГМ, що була викликана різними чинниками в динаміці експерименту у дорослих і старих тварин, ліній Wistar та SHR.

Винесені на захист положення ґрунтуються на аналізі матеріалів власних досліджень, володіють науковою новизною. Зокрема шукачем вперше було показано і охарактеризовано динаміку та мікроРНК-1-опосередковану регуляцію одного з ключових регуляторів гіпертрофії серця – IGF1 – при терміновій, сталій та дизрегульованій гіпертрофії. Встановлено тісну асоціацію експресії мРНК і білка IGF-1 та пов'язаних з ним білків Akt, HSP60, SERCA2 з розвитком і зворотнім розвитком термінової гіпертрофії. Вперше показано, що стала гіпертрофія міокарда у щурів SHR асоційована з пригніченням реакції IGF1-залежних та

регуляторних шляхів на прогіпертрофічний стимул на тлі підвищеної експресії білка SERCA2, що забезпечує скоротливу функцію, а також наявністю незворотніх структурних перетворень міокарда. Вперше продемонстровано прогресивне наростання дефіциту структурного білка дистрофіну в динаміці розвитку гіпертрофії. Вперше виявлено порушення мікроРНК-1-залежної регуляції експресії IGF-1 при сталій гіпертрофії, порушення дозрівання мікроРНК-1 при старінні, що може бути причиною дизрегуляторних структурних та функціональних змін в гіпертрофованому міокарді.

Матеріали дисертації опубліковано у 18 наукових працях, в тому числі 7 статей у фахових наукових журналах, а також 11 тез доповідей, в тому числі 8 – на зарубіжних конференціях. Таким чином, положення, що виносяться на захист, володіють новизною, достовірністю і в повній мірі представлені в наукових публікаціях.

### **Теоретичне і практичне значення результатів дослідження.**

Дані, отримані в ході роботи, мають як фундаментальну цінність, так і практичну. Визначення змін функціонального стану серцево-судинної системи в умовах сполученої дії патологічних факторів є внеском до загальних відомостей щодо відмінностей між розвитком термінової та сталої гіпертрофії міокарда, а також морфологічних змін в міокарді в динаміці процесу, та на рівні експресії білків залучених до цього процесу та гену IGF1 і його регулятора miRNA1. Одержані результати є засадою для наступних досліджень спільного впливу цих чинників і покращення розуміння роботи серцево-судинної системи, компенсаторних механізмів, які задіяні при розвитку ГМ, як за умов гострих чинників так, і за умови довготривалого впливу артеріального тиску. Дослідження цих механізмів є необхідною умовою для розуміння реакцій організму на гіпертрофічні фактори, що можуть сукупно впливати на нього в середовищі існування.

Отримані відомості можуть бути впроваджені в навчальний процес освітніх закладів біологічного, медичного, педагогічного та спортивного профілю.

**Оцінка змісту дисертації, її завершеності, ідентичності змісту автореферату й основних положень дисертації.**

Дисертаційна робота Лапікова-Бригінської Тетяни Юріївни оформлена відповідно до «Основних вимог до дисертацій та авторефератів дисертацій» ДАК України. Рукопис побудований за класичною схемою і складається з трьох розділів (огляду, методів, результатів та їх обговорення), узагальнень і висновків. Роботу викладено на 148 сторінках та ілюстровано 57 рисунками.

У вступній частині надано обґрунтування актуальності дисертації; зв'язок роботи з науковими темами відділу; формулювання мети та завдань дослідження; визначення об'єкту, предмету і перелік використаних методів дослідження зі стислою конкретизацією необхідності їх застосування; наукова новизни отриманих результатів та їх практичне значення; особистий внесок здобувача; перелік наукових форумів, де були апробовані основні положення роботи; перелік публікацій дисертанта за матеріалами дисертації, автор поряд з описом сучасного стану і актуальності вирішуваних питань чітко окреслює мету та п'ять завдань своєї роботи.

Огляд літератури даної дисертації є інформативним, повним і цікаво викладеним.

В розділі 2 *«Матеріали і методи дослідження»* ретельно описані методики із характеристикою досліджуваних показників. Комплекс методів, за допомогою яких вирішувались поставлені завдання, був спрямований на з'ясування механізму розвитку гіпертрофії лівого шлуночка серця. (Експериментальна модель термінової гіпертрофії міокарда шляхом  $\beta$ -адренергічної стимуляції; Визначення параметрів кардіодинамічних показників *in vivo* проводили за допомогою мікрокатетера для реєстрації тиску-об'єму (Millar Instruments); Морфометричні та морфологічні методи

досліджень; Визначення рівня експресії білків методом імуноблотингу; Виділення РНК з тканин серця; Зворотна транскрипція та полімеразна ланцюгова реакція у реальному часі). Обрані методики є адекватними, сучасними і охоплюють різні функціональні рівні, а дані отримані за їх допомогою доповнюють і пояснюють одне одного.

В *третьому розділі* дисертації, автором було представлено результати власних досліджень, щодо механізмів розвитку термінової та сталої гіпертрофії серця у щурів ліній SHR та Wistar. Містить результати, що присвячені дослідженню змін кардіогемодинаміки, морфології серця дорослих щурів лінії Wistar при ізопротеренол-індукованій терміновій гіпертрофії, а також у SHR при сталій гіпертрофії. Визначено рівні експресії генів IGF-1, miRNA1 та білків IGF-1, Akt, SERCA2, HSP60 та дистрофіну.

У *четвертому розділі* освітлено- вікові прояви і механізми розвитку гіпертрофії міокарда у щурів ліній SHR та Wistar. Тут представлені дослідження змін кардіогемодинаміки, морфології серця щурів лінії SHR віком 18 міс при дизрегульованій гіпертрофії міокарда, індукованій збільшеним постнавантаженням на серце, у порівнянні з щурами віком 6 міс і щурами лінії Wistar аналогічного віку. Досліджено рівні експресії мікроРНК-1 та білка IGF-1.

У *п'ятому розділі* Тетяна Лапікова-Бригінська проводить аналіз і обговорення отриманих результатів дослідження, що дозволило зробити аргументовані висновки, які чітко сформульовано, вони повністю відповідають меті та завданням дисертаційної роботи, та відображають основні результати роботи.

Дисертація викладена у відповідності з логікою наукової роботи. Мова і стиль викладення матеріалів дисертації відповідають вимогам, що

пред'являються до дисертацій. Викладення матеріалу дозволяє засвоїти основні положення дисертації.

### **Питання та зауваження, що виникли при ознайомленні з дисертацією**

Принципових зауважень до змісту й оформлення дисертації, які могли б вплинути на загальну позитивну оцінку роботи немає. Однак виявлено певні недоліки:

1. При написанні символів генів та їх продуктів слід враховувати вимоги міжнародних номенклатурних комітетів, таких як NGNC (HUGO Gene Nomenclature Committee ). Згідно положень номенклатурного комітету з геному щурів Guidelines for Nomenclature of Genes, Genetic Markers, Alleles, and Mutations in Mouse and Rat назви генів пишуться курсивом, починаючи із великої літери, а назви білків пишуться великими прямими літерами.
2. Є незначні зауваження щодо застосування наукових термінів, таких як «експресія» та до дотримання вимог щодо оформлення дисертацій, зокрема назв деяких рисунків.
3. Доцільно було б в авторефераті давати рисункам загальну назву.

При розгляді змісту дисертації та автореферату виникли наступні питання:

1. Існує думка, що сигнальні шляхи фізіологічної та патофізіологічної гіпертрофії міокарда відрізняються. Якщо у випадку з фізіологічною гіпертрофією фізичні вправи викликають виділення IGF1, що веде до зростання розміру кардіоміоцитів через активацію PI3K(p110 $\alpha$ ) і AKt1, то у випадку формування патологічної гіпертрофії такі сигнальні молекули, як Ang II та ET-1, призводять до збільшення у розмірах серця

через GPCRs (G-протеїнзв'язуючий рецептор). Чи отримані Вами дані можуть підтвердити цю теорію, чи спростувати?

2. Важливим фактором у розвитку гіпертрофії серця є фермент mTOR (англ. – *mammalian target of rapamycin*), що належить до родини серин/треонін специфічних протеїнкіназ. mTOR грає важливу роль у передачі позаклітинних сигналів через фосфорилування численних субстратів у різних метаболічних реакціях організму людини та регулює метаболізм у м'язовій тканині шляхом фосфорилування різних ферментів білкового обміну, а також факторів транскрипції і трансляції. Чому у своїй роботі Ви не вивчали роль цього фактору у опосередкуванні розвитку гіпертрофії міокарду?
3. У Вашій роботі вивчено динаміку рівня некодуючої мікроРНК1 при гіпертрофії лівого шлуночка. Нещодавно було показано вплив на гіпертрофічне ремоделювання серця та прогресування серцевої недостатності низки довгих некодуючих РНК, зокрема таких як CHRF, MHRT CHAST, NRON та інш. Чи не вважаєте Ви, що ці фактори також можуть зчиняти вплив на процеси формування гіпертрофії міокарда, впливаючи на перебіг сигналіngu?
4. Які на Вашу думку є механізми зниження експресії дистрофіну при гіпертрофії міокарду?

Поставлені запитання не впливають на загальну позитивну оцінку роботи та не зменшують її наукової цінності.

### **Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам**

Дисертаційна робота Лапікова-Бригінської Тетяни Юріївни «Роль Інсуліноподібного фактору росту 1 (IGF-1) у молекулярно-генетичних механізмах розвитку гіпертрофії міокарда», що подана на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за своєю актуальністю і значимістю отриманих результатів, а також виконана на високому науковому рівні і



цілком відповідає всім вимогам, встановленим ДАК України, які висуваються до кандидатських дисертацій. Дисертантом чітко сформульована мета, і відповідно до мети поставлені завдання дослідження. Вирішення поставлених завдань відображено у розділах експериментального дослідження. Достовірність даних і наукових висновків зроблених на їх основі є високою і визначається кількісно і якісно поданим експериментальним матеріалом. Основні положення й результати дисертації були представлені та обговорені на конференціях, конгресах та профільних наукових форумах:

- ISHR Heart Failure 2012 (Beograd, Serbia, May 2012), (постерна доповідь); Frontiers in CardioVascular Biology 2014 (Barcelona, Spain, 04 - 06 Jul 2014), (постерна доповідь); ISHR Heart Failure 2016 (Florence, Italy, 21-24 May 2016), (постерна доповідь); The 51st Annual Scientific Meeting of ESCI European society of clinical investigation (Italy, Genoa, May 2017), (постерна доповідь); Summer School on Basic Cardiovascular Science (18-20 June 2017, European Heart House, Sophia - Antipolis, France), (постерна доповідь); The 52st Annual Scientific Meeting of ESCI European society of clinical investigation "Precision medicine for healthy ageing" (Spain, Barcelona, May 2018), (постерна доповідь); Europhysiology 2018 (London, UK, 14-16 September 2018), (постерна доповідь).

Зважаючи на зв'язок з науковими темами і широке висвітлення результатів у науковій літературі, обговорення на численних міжнародних форумах, а також перспективність напрямку даних досліджень, вважаю, що дисертація відповідає п.11 «Порядку присудження наукових ступенів» Постанови Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року №567 (зі змінами, внесеними в Постановках КМ № 656 від 19.08.2015, № 1159 від 30.12.2015 та № 567 від 27.07.2016), щодо кандидатських дисертацій, а її автор

Тетяна Юріївна Лапікова-Бригінська безперечно заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю – 03.00.13 – фізіологія людини і тварин.

Офіційний опонент

доктор біологічних наук, професор,  
професор кафедри медико-біологічних  
дисциплін

Національного університету фізичного  
виховання і спорту України

Дроздовська  
Богданівна

Світлана



*Дроздовської С. Б.*

Начальник  
відділу кадрів



*А. В. Степаненко*