

ВІДЗИВ

офіційного опонента на дисертаційну роботу Пальчевської Оксани Леонідівни «Особливості розвитку постнатального міокарда за умови гетерозиготної делеції гена β -катеніну», що представлена до захисту на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю

03.00.22 - молекулярна генетика

Актуальність теми дисертаційної роботи Оксани Леонідівни з тим, що β -катеніновий шлях сигналізації, з одного боку, давно привернув дослідників, передусім, пухлинних процесів, а з іншого, що цей шлях недостатньо вивчений в серці, особливо під час постнатального розвитку. Більше того, дослідники катенінової сигналізації в серці отримали абсолютно протилежні дані, що не дозволяють прийти до однозначного висновку. Єдине, в чому усі тримаються спільної думки, то те, що цей шлях надзвичайно важливий, має велике значення, але яке - проєктивне чи патологічне - невідомо. Саме до розв'язання цієї запутаної проблеми і долучилася авторка дисертаційної роботи. Застосувавши методіку відтворення генетичної патології (генетично модифіковані тварини із умовним нокаутом) та ряд сучасних молекулярно-генетичних методик, Оксана Леонідівна отримала нові дані про роль делеції гена β -катеніну у розвитку дорослого серця. Показано, що пригнічення сигнальної функції β -катеніну у неонатальному серці асоційоване із підвищенням експресії гіпертрофічних генів у дорослому міокарді. Це надає роботі практичного значення, бо відкриває нові шляхи терапії лікування хвороб серця.

Наукова новизна отриманих результатів. Отримано фундаментальні дані, які доповнюють та розширюють попередні уявлення про молекулярні та

молекулярно-генетичні механізми функціонування постнатального міокарда на молекулярно-біологічному та молекулярно-генетичному рівні, уточнено функцію β -катеніну у регуляції розвитку постнатального міокарда та його адаптації до навантажень.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Отримані наукові положення і висновки обґрунтовані достатнім обсягом молекулярно-генетичних та цитологічних досліджень. Висновки роботи є логічними, аргументованими та базуються на отриманих результатах.

Якість використаних для дослідження методів, репрезентативність отриманих результатів. Робота виконана на сучасному методичному рівні, досліді проводили умовно нокаутних та трансгенних тварин, а також первинних культур кардіоміоцитів. Використання CreLoxP технології дало змогу дослідити сигнальну функцію β -катеніну у постнатальному серці та при адаптації серця до фізичних навантажень за умови делеції одного алеля досліджуваного гена. Рівень відносної експресії генів визначали методом кількісної ПЛР в реальному часі на приладах CFX96 та IQ-5. Достатній об'єм проаналізованого матеріалу дозволили вирішити поставлені задачі, зробити логічні висновки, що витікають із проведеного дослідження.

Практичне значення одержаних результатів полягає в тому, що вони сприяють виявленню нових перспективних мішеней для розробки принципово інших стратегій лікування недостатності серця та гіпертрофії міокарда.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційну роботу виконано науково-дослідних проектів відділу генетики людини Інституту молекулярної біології та генетики НАН України: «Розробка фундаментальних основ клітинної терапії патологій серця», цільової комплексної міждисциплінарної програми наукових досліджень НАН України «Фундаментальні основи молекулярних та клітинних біотехнологій» (номер державної реєстрації 7/2015, 2010-2014 рр.) та «Дослідження регуляторної функції β - та α -катеніну у вікових та патологічних перебудовах/реконструкціях дорослого міокарда для потреб персоналізованої медицини та розробки сучасних методів профілактики, діагностики захворювань та лікування хвороб серця людини» цільової комплексної міждисциплінарної програми наукових досліджень НАН України «Молекулярні та клітинні біотехнології для потреб медицини, промисловості та сільського господарства» (номер державної реєстрації 40/2015, 2015-2019 рр.) та в рамках бюджетних тем відділу генетики людини «Особливості експресії гена репаративного ензиму Об-алкілгуанін-ДНК алкілтрансферази в умовно нормальних та пухлинних клітинах» (номер державної реєстрації 0108U008526, 2009-2013 рр.) та «Регуляції експресії гена репаративного ензиму MGMT під впливом деяких біологічно активних речовин (гормонів, цитокінів, лектинів та ін.) у клітинах ссавців» (номер державної реєстрації 0115U000355, 2014-2018 рр.).

Загальна характеристика роботи. Дисертаційна робота викладена на 119 сторінках друкованого тексту та складається із “Вступу”, “Огляду літератури” (7 підрозділів), експериментальної частини, до якої входять розділи „Матеріали та методи досліджень” (3 підрозділи), „Результати досліджень” (5 підрозділів), „Обговорення результатів”, “Заключення” та

“Висновки”. Робота ілюстрована 25 рисунків рисунками та містить 3 таблиці. Закінчується списком використаних літературних джерел, що включає 176 посилань.

Розділ “Огляд літератури” охоплює велику кількість літературних даних по темі дисертаційної роботи із детальним аналізом механізмів роботи Wnt-сигналіну та його ролі в патології серця.

У розділі «Матеріали та методи» описано методи роботи із тваринами, клітинами, виділення ДНК та РНК, спектрофотометричні методи визначення кількості РНК та ДНК, електрофоретичний аналіз нуклеїнових кислот, методи зворотної транскрипції і полімеразної ланцюгової реакції, гістологічних досліджень, а також Вестерн-блот аналіз протеїнів та статистичний аналіз результатів.

У розділі „Результати досліджень” наведено дані щодо вивчення сигнальної функції β -катеніну в постнатальному розвитку міокарда, ембріональної кардіоспецифічної делеції однієї алелі гена β -катеніну, дефіциту гена β -катеніну в постнатальному серці, гетерозиготної делеції гена β -катеніну в постнатальному серці, сигнальної функції β -катеніну у ізолюваних кардіоміоцитах за умови впливу гіпертрофічних стимулів

Розділ «Аналіз та узагальнення результатів» дозволяє автору зібрати разом велику кількість фактичного матеріалу, наведеного у попередніх розділах та зробити логічні висновки, що безпосередньо впливають із результатів роботи.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях та у авторефераті. Наукові положення дисертаційної роботи зроблені ним висновки та рекомендації, що чітко сформульовані в дисертації, досить повно відображені в опублікованих 15 наукових працях, із яких 5 статей, що

опубліковані у фахових вітчизняних та міжнародних наукових виданнях, та 10 тез доповідей у матеріалах міжнародних і вітчизняних наукових з'їздів та конференцій. Основні положення дисертації знайшли ґрунтовне і логічне відображення в авторефераті, який повністю відповідає змісту дисертації.

ЗАУВАЖЕННЯ.

1. В якості індукторів гіпертрофії кардіоміоцитів дисертант використовував розчин хлориду літію та розчин пероксиду водню, посилається на авторитетні джерела, але трактує їх не зовсім коректно. Хлорид літію є інгібітором кінази глікоген-синтази і цього недостатньо для індукції гіпертрофії – лише поєднання з гіпертрофічними факторами підсилює ефект (Yamamoto F, Yamamoto H. Effect of inhibition of glycogen synthase kinase-3 on cardiac hypertrophy during acute pressure overload // Gen Thorac Cardiovasc Surg. 2010 Jun;58(6):263-4.). Перекис водню, тим більше, не має специфічного ефекту, а індукує і апоптоз, і некроз, а далі й гіпертрофію в тих клітинах, що не померли одразу.

2. Незрозуміло, чому автор дослідження, маючи різні антитіла до катеніну, не зробила імуногістохімічних досліджень для візуалізації цього протеїну як в серці, та і в культурі кардіоміоцитів?

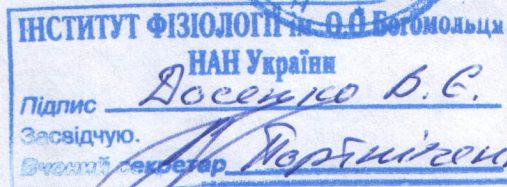
3. Автор пише у дисертаційній роботі та авторефераті наступне: «Отримані дані свідчать про залучення сигнальної функції β -катеніну у розвитку серця, а також про необхідність активації канонічного Wnt сигналінгу та β -катеніну при фізіологічній гіпертрофії серця» (підкреслено мною). При цьому незрозуміло, яким чином була проведена диференціація між «фізіологічною» та патологічною гіпертрофією і в чому доцільність застосування цього дефектного терміну взагалі?

ЗАКЛЮЧЕННЯ.

Дисертаційна робота Пальчевської Оксани Леонідівни «Особливості розвитку постнатального міокарда за умови гетерозиготної делеції гена β -катеніну», подана до спеціалізованої вченої ради Д 26.237.01 Інституту молекулярної біології та генетики НАН України, за своєю актуальністю, науковим і практичним значенням, глибиною і обсягом досліджень, змістом та оформленням повністю відповідає вимогам ДАК України про присудження наукових ступенів стосовно дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата наук, а її виконавець – Пальчевська Оксана Леонідівна заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.22 – молекулярна генетика.

Завідувач відділу загальної та молекулярної патофізіології Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України,
доктор медичних наук, професор

В.Є.Досенко



Підпис

Засвідчую.

Вчений секретар

Досенко В.Є.

Дергаченко В.І.