

**ВІДГУК**  
**офіційного опонента на дисертаційну роботу**  
**Пальчевської Оксани Леонідівни**  
**«ОСОБЛИВОСТІ РОЗВИТКУ ПОСТНАТАЛЬНОГО МІОКАРДА ЗА**  
**УМОВИ ГЕТЕРОЗИГОТНОЇ ДЕЛЕЦІЇ ГЕНА *B-KATENINU*»,**  
представленої до захисту на здобуття наукового ступеня  
кандидата біологічних наук за спеціальністю  
**03.00.22 – молекулярна генетика**

Дисертаційна робота Пальчевської Оксани Леонідівни присвячена надзвичайно актуальній для науки і суспільства проблемі – регуляції роботи серця.

**Актуальність роботи.** На сьогодні в Україні серцево-судинні захворювання зумовлюють майже дві третини усіх випадків смерті та третину причин інвалідності. Результати проведених статистичних досліджень свідчать про значне поширення факторів ризику серцево-судинних захворювань (у 33,5 % дорослого населення виявлена артеріальна гіпертензія, 56,8 % - мають надлишкову вагу, 44 % чоловіків і 16,5 % жінок курять). За даними Державної служби статистики у 2013 році в Україні близько половини всіх смертей була обумовлена саме серцево-судинними захворюваннями. Варто зауважити, що захворювання серцево-судинної системи не лише загрожують здоров'ю населення Європи в цілому та України зокрема, а й мають вагомий соціальний та економічний вплив, оскільки спричиняють значне погіршення якості життя та обмеження індивідуальних можливостей хворих.

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

Роботу виконано 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.). Крім того - в рамках конкурсних науково-дослідних проектів відділу генетики людини Інституту молекулярної біології і 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  $\beta$ - та  $\alpha$ -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.).

**Наукова новизна дослідження та одержаних результатів, ступінь обґрунтованості наукових положень і висновків, сформульованих у дисертації.** Робота ґрунтується на значному обсязі експериментального матеріалу, виконана на сучасному науковому і методологічному рівні. Особливу увагу слід звернути на те, що робота виконувалась в тому числі і в міжнародному партнерстві, про свідчать походження окремих матеріалів та прізвища співавторів публікацій.

В даній роботі вперше показано важливість сигнальної функції  $\beta$ -катеніну для розвитку постнатального серця та адаптації міокарда до тривалих фізичних навантажень.

**Практичне значення одержаних результатів.** Дослідження дає змогу доповнити та розширити попередні уявлення про функціонування дорослого серця на молекулярно-генетичному рівні. Було уточнено функцію  $\beta$ -катеніну у регуляції розвитку постнатального міокарда та його адаптації до фізичних навантажень. Отримано дані щодо його принципової ролі у термінальній специфікації кардіоміоцитів, розвитку постнатального серця і адаптації міокарда до фізичних навантажень. Вони вказують на те, що  $\beta$ -катенін є

потенційною мішенню для таргетної терапії розвитку серцевої гіпертрофії. Результати даної роботи можуть бути використані для розробки терапії та діагностики розвитку гіпертрофії серця.

**Особистий внесок здобувача.** Викладені в дисертаційній роботі результати було отримано особисто здобувачем або за його безпосередньої участі.

**Відповідність автореферату змісту дисертації.** Автореферат адекватно відображає матеріали, які в повній мірі віддзеркалюють основні результати дисертації.

**Повнота викладу результатів у наукових публікаціях.** За темою дисертації опубліковано 5 статей у фахових наукових журналах, рекомендованих ДАК МОН України, та зроблено 10 доповідей на українських та закордонних міжнародних конференціях. Серед 5 наведених публікацій 3 опубліковано в журналах, що анотуються в міжнародній наукометричній базі даних Scopus. Таким чином, дисертація пройшла повноцінну апробацію.

**Оцінка мови та стилю дисертації.** Дисертація в цілому написана грамотною науковою мовою. Наявні помилки не впливають на загальне сприйняття роботи.

**Структура дисертації.** Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, результатів досліджень, узагальнення та аналіз отриманих результатів, висновків і списку використаних джерел. Загальний обсяг дисертації - 128 сторінок машинописного тексту. Ілюстративний матеріал дисертації подано у вигляді 3 таблиць та 25 рисунків. Список використаних джерел охоплює 176 найменувань, серед яких переважають роботи останніх років.

У **вступі** обґрунтовано актуальність проведених досліджень, визначено мету, завдання, об'єкт та предмет дослідження, наукову новизну та практичне значення одержаних результатів, показано зв'язок теми роботи з науковими програмами та темами, зазначено особистий внесок та наведено перелік конференцій, на яких було апробовано результати роботи.

Розділ «Огляд літератури» складається з п'яти підрозділів, що описують усі положення роботи і аргументують доцільність виконання її експериментальної частини. Інформація в цьому розділі викладена логічно і відповідає тим питанням, які розглянуто в дисертаційній роботі.

В розділі «Матеріали і методи» Пальчевська О.Л. описує використану в роботі модель, а саме, CreLoxP технологію та отримання поколінь трансгенних тварин з її застосуванням. Також в цьому розділі дисертантка описує використані методи дослідження: молекулярно-генетичні (виділення ДНК та РНК, ПЛР, РТ-ПЛР в реальному часі), гістологічні (гематоксилін-еозинове забарвлення, Масон-трихромне забарвлення), методи клітинної біології (виділення клітин у культуру, МТТ-тест) і методи математичної статистики.

Розділ 3 демонструє результати, одержані при виконанні дисертаційної роботи. Авторці вдалося показати, що ембріональна кардіоспецифічна гетерозиготна делеція гена  $\beta$ -катеніну у ембріональному серці не спричиняє летальності дорослих тварин та виникненню морфологічних вад міокарда. Однак така делеція призводить до затримки розвитку дорослого серця та асоційована із підвищеною експресією фетальних генів ANP, BNP та  $\beta$ -MHC. Показано, що і гетерозиготна, і повна делеція гена  $\beta$ -катеніну пригнічує метаболізм і спричиняє гіпертрофічний ріст первинних культур клітин серця. В ході виконання дисертаційної роботи Пальчевська О.Л. показала, що гетерозиготна делеція гена  $\beta$ -катеніну може активувати канонічний Wnt сигналінг у серці новонароджених та дорослих тварин. Провівши детальний аналіз популяцій первинних культур кардіоміоцитів як з повною, так і з гетерозиготною делецією гена  $\beta$ -катеніну, Пальчевській О.Л. вдалося виявити порушення термінального диференціювання кардіоміоцитів в досліджуваній моделі. Пальчевською О.Л. було показано, що сигнальна функція  $\beta$ -катеніну виступає як необхідна умова адаптації дорослого серця до фізичних навантажень та розвитку гіпертрофії міокарду.

Узагальнення та аналіз держаних результатів наведено в розділі 4, з яких витікають висновки, що відповідають меті і завданням дисертаційної роботи.

**Окремі дискусійні питання та зауваження до дисертації.** У оппонента є кілька зауважень до роботи, на які хотілося б отримати пояснення дисертанта:

1. В назві роботи слід було б зазначити назву об'єкту досліджень, наприклад, «Особливості розвитку постнатального міокарда миші...»
2. В матеріалах і методах трансгенні миші не згадуються як основні біологічні об'єкти на українській мові, а представлені тільки в латинському написанні.
3. Не зрозумілий смисл фрази «... в трьох біологічних повторях».
4. Cre-loxP система має не бактеріальне, а фагове походження.
5. Рис. 2.2 і опис до нього в тексті слід було б розмістити в «Результатах», а не в матеріалах і методах.
6. Хотілося б зрозуміти, що означає фраза «гетерозиготна делеція основного медіатора канонічного Wnt сигналіngu»?
7. В якому контексті йдеться про умовний нокаут гена  $\beta$ -катеніну?
8. Не зрозуміло, що авторка розуміє під площею клітин. Площа клітин – це площа циліндра, еліпсоїда обертання чи шара? Чи насправді – це площа фронтального зображення клітин в мікроскопі? Тоді це треба було б і зазначити.
9. Не зрозуміло, де на рис. 3.8 верхній та нижній ряд.
10. Із варіаційних кривих, поданих на рис. 3.9 і в тексті, не зрозуміло, які одиниці вимірювання площі –  $\text{см}^2$ ,  $\text{мм}^2$  чи  $\text{мкм}^2$ .
11. У преамбулі до висновків сказано «Сигнальна функція гена  $\beta$ -катеніну важлива для розвитку ...». Сигнальна функція, скоріш за все, відноситься не до гену, а до його продукту. Чи ні?
12. Вираз «вад структури міокарда». У структури не може бути вад, це жаргон. Структура може змінюватись, руйнуватись і таке інше.
13. Опоненту хотілось би почути відповідь на наступне питання. В гетерозиготі при делетуванні гена спостерігається якийсь рівень синтезу  $\beta$ -катеніну, фоновий, або половинний, чи ні?

Крім того опонент має деякі зауваження щодо термінологічних і технічних недоречностей роботи.

Так, серед технічних помилок варто відмітити наступні:

1. Відсутність позначення сигнальних шляхів на рис. 1.1, тоді як вони наявні в легенді до рисунку у вигляді римських чисел від I до III.
2. На рис. 1.4 означено не всі символи, у підписі до нього; не зрозуміле скорочення «ФСБ».
3. EDTA – це кислота. Сіль прийнято позначати  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  або етилендіамінотетраацетат натрію.
4. 50-70 мг лізату в лунку для електрофорезу не внесеш, мабуть 50-70 мкл.
5. На рис. 3.6 наявне недоречне позначення у вигляді великої літери «Б».

Серед термінологічних недоречностей опонент відзначає такі:

1. Зустрічаються жаргонні фрази типу «ефективність взаємодії ТФ з ДНК не залежить напряду від послідовності ДНК...», «масивні експериментальні дані...», «комплексніший», «вортексували», «ранні терміни після народження», «дикотипність», « $\beta$ -катенін має функцію» - він володіє функцією, а не має її.
2. Зустрічаються англіцизми типу «операбельний».
3. Після хв (хвилини) крапка не ставиться.
4. «Axin2 є одним із механізмів...»
5. Що означає термін «стовбуровість»?

Однак наведені зауваження не знижують загальної високої оцінки розглянутої роботи.

**Висновок.** Враховуючи актуальність та обсяг проведених досліджень, наукову новизну одержаних результатів, обґрунтованість висновків, перспективи фундаментального та прикладного застосування, а також відсутність суттєвих зауважень до рукопису, вважаю, що дисертаційна робота Пальчевської Оксани Леонідівни «Особливості розвитку постнатального

міокарда за умови гетерозиготної делеції гена  $\beta$ -катеніну» повністю відповідає вимогам постанови Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року № 567 «Порядок присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.22 – молекулярна генетика.

**Офіційний опонент,**

завідувач відділу молекулярної генетики бактеріофагів

Інституту мікробіології та вірусології

імені Д.К. Заболотного НАН України

доктор біологічних наук,

старший науковий співробітник,

член-кореспондент НАН України

Ф.І. Товкач

Підпис зав. Відділу молекулярної генетики бактеріофагів,

д.б.н., с.н.с., чл.-кор. Ф.І. Товкач

**ЗАСВІДЧУЮ**

**Вчений секретар**

Інституту мікробіології та вірусології

імені Д.К. Заболотного НАН України

к.б.н.



О.В. Андрієнко