

18 СІЧ 2017

Вх. № 61/03-07
Анастасії Павлівни

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу **Харьковой Анастасії Павлівни** «ERN1-ЗАЛЕЖНА РЕГУЛЯЦІЯ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ СИСТЕМИ IGF У КЛІТИНАХ ГЛІОМИ», представленої в спеціалізовану вчену раду Д 26.240.01 Інституту біохімії імені О.В. Палладіна НАН України на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Актуальність вибраної теми дисертації. Ідентифікація генів та протеїнів, які можуть бути потенційними мішенями для пошуку нових стратегій пригнічення пухлинного росту, залишаються, на мою думку, однією з найактуальніших проблем досліджень механізмів онкогенної трансформації, регуляції процесів виживання та загибелі клітин під час розвитку злоякісних новоутворень на молекулярному і клітинному рівнях. Відомо, що гліоми є найбільш поширеними та агресивними пухлинами центральної нервової системи, які важко піддаються терапії, і лише 10% пацієнтів з таким діагнозом живуть більше двох років. Дослідження ролі системи подібного до інсуліну фактора росту IGF (insulin like growth factor) у регуляції проліферації клітин гліоми людини є важливою ланкою в ланцюзі молекулярно-біологічних та біохімічних досліджень пухлин і тому обрану тему дисертаційної роботи слід вважати актуальною.

Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами. Дисертаційну роботу виконано протягом 2013–2016 рр. у відділі молекулярної біології Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України у рамках проведення планових досліджень за бюджетними темами: «Молекулярні основи взаємодії генів в механізмах регуляції їх експресії», № ДР 0111U002234 (2011–2015 рр.), «Механізми регуляції внутрішньоклітинних сигнальних мереж, міжклітинних та міжмолекулярних взаємодій», № ДР 0112U002624 (2012–2016 рр.) та «Роль стресу ендоплазматичного ретикулума у функціональній перебудові геному і пошук генів-мішеней для пригнічення росту гліом», № ДР 0116U001027 (2016–2020 рр.) та на кафедрі біохімії ННЦ

«Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка МОН України в рамках науково-дослідної теми «Механізми реалізації адаптаційно-компенсаторних реакцій організму за умов розвитку різних патологій» № ДР 0111U004648 (2011-2015 рр.).

Мета і задачі дослідження. Перед дисертантом була поставлена мета – вивчити експресію генів протеїнів системи подібного до інсуліну фактора росту у клітинах гліоми лінії U87 за умов пригнічення функціональної активності ERN1, сигнального ензиму стресу ендоплазматичного ретикулума, для з'ясування їх ролі в опосередкованому ERN1 контролі процесів проліферації клітин гліоми. Для досягнення мети були визначені такі основні завдання, як: дослідити залежність експресії генів основних компонентів системи подібного до інсуліну фактора росту в клітинах гліоми лінії U87 від функціональної активності сенсорно-сигнального ензиму ERN1 та впливу гіпоксії на неї, а також вивчити залежність регуляції експресії генів родини *IGFBP* від функціональної активності ендорибонуклеазного домену ERN1 за впливу дефіциту глюкози і глутаміну на них.

Наукова новизна одержаних результатів. Автором вперше було показано те, що експресія основних компонентів системи подібного до інсуліну фактора росту (IGF) та генів родини протеїнів, які зв'язуються з мРНК IGF залежить від функціональної активності сенсорно-сигнального ензиму стресу ER (ERN1) і може бути причетною до контролю процесів проліферації клітин гліоми, а також пригнічення ензиму ERN1 модифікує ефекти гіпоксії на експресію частини досліджених генів, засвідчуючи різні механізми гіпоксичної регуляції експресії генів родини IGF.

Поряд з цим, для генів *IGFBP3* і *IGFBP1* показано залежність напрямку регуляції їх експресії за умов відсутності у поживному середовищі глутаміну і/або глюкози від функціональної активності ензиму ERN1. Експериментальні дані дисертанта розкривають елементи молекулярних механізмів впливу гіпоксії, а також дефіциту глюкози та глутаміну на одну з основних сигнальних систем відповіді клітини на стрес ER – ензим ERN1.

Із практичної сторони отримані експериментальні результати роботи показують елементи, які необхідно враховувати при розробці нових підходів до терапії злоякісних новоутворень, а саме: виявлені перспективні гени-мішені для розробки нових стратегій пригнічення росту злоякісних пухлин та взаємозв'язок сигнальної системи стресу ER з гіпоксією та дефіцитом поживних речовин у регуляції експресії генів, залучених до контролю процесів проліферації.

Стосовно структури та обсягу дисертації слід відзначити, що вона викладена на 143 сторінках друкованого тексту і складається з вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, результатів досліджень і їх обговорення, висновків, списку використаних джерел (238 найменувань) та містить 6 таблиць, 30 рисунків і 3 додатки.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті. За результатами дисертації опубліковано 23 роботи, з них 11 статей (9 експериментальних та 2 оглядові) в іноземних та вітчизняних фахових наукових виданнях, що входять до переліку, затвердженого ДАК України, і 12 тез доповідей у матеріалах міжнародних та Всеукраїнських форумів, з'їздів та конференцій.

Автореферат достатньо відображає найбільш важливі положення дисертації і відповідає її змісту, а зроблені висновки сповна віддзеркалюють досягнення дисертанта.

Поряд з наведеною позитивною оцінкою дисертаційної роботи слід виділити такі основні дискусійні **питання, побажання та зауваження:**

1. На мою думку, як в авторефераті, так і в дисертаційній роботі слід стисліше і конкретніше представити підрозділи «**Наукова новизна**

одержаних результатів» і «Практичне значення одержаних результатів», щоб це не виглядало повторенням висновків дисертації.

2. Оскільки тема дисертаційної роботи **«ERN1-залежна регуляція експресії генів системи IGF у клітинах гліоми»**, то бажано представити узагальнену схему регуляції, використавши, можливо рисунок «Зміни у функціонуванні системи IGF та їх можливі ефекти на рівні клітини в нормі (U87) та за умов пригнічення сенсорно-сигнального ензиму стресу ендоплазматичного ретикулума ERN1 (dnERN1)»
3. На мою думку, у дисертаційній роботі і/або презентації самого матеріалу слід надати схему експериментальних досліджень для чіткішого сприйняття всього об'єму робіт.
4. Чому саме було вибрано антибіотик тунікамідин для моделювання стресу ендоплазматичного ретикулуму клітин ?
5. За якими параметрами, передусім, обирають стрес-фактори ендоплазматичного ретикулуму клітин?
6. Побажання на майбутнє підготувати відповідні методичні матеріали для розробки нових підходів до терапії злоякісних новоутворень.
7. Чи є літературні дані щодо генів, модифікація яких спричиняла би виникнення гліоми, та практичне використання таких результатів для генної терапії?
8. Які відомі молекулярні механізми пригнічення пухлинного росту шляхом інгібування сенсорно-сигнального ензиму стресу ER (ERN1)?
9. На с.34 дисертаційної роботи «...фосфорилує фактор **транскрипції** eIF2 α » слід замінити на «...фосфорилує фактор **трансляції** eIF2 α »
10. На мою думку, «виділення **тотальної** РНК» краще було б замінити на «виділення **сумарної** РНК»
11. Бажано вживати термін «у **порожнині** ендоплазматичного ретикулуму», не «в **люмені** ендоплазматичного ретикулуму» в авторефераті та дисертації (наприклад, на с.8 дисертаційної роботи і т.п.)

Вищенаведені та інші недоліки, побажання й зауваження, які обговорювалися із автором та науковим керівником, не знижують наукової цінності дисертаційної роботи, адже вони стосуються переважно її оформлення та інтерпретації результатів.

Загальний висновок. Зважаючи на актуальність теми, наукову новизну одержаних даних, їхнє теоретичне і практичне значення, передусім, з'ясування експресії генів, які кодують основні компоненти системи подібного до інсуліну фактора росту, у клітинах гліоми лінії U87 за умов пригнічення функціональної активності ERN1, основного сенсорно-сигнального ензиму стресу ендоплазматичного ретикулула, а також за умов гіпоксії та дефіциту поживних речовин (глюкози або глутаміну), для встановлення можливої ролі цих генів в опосередкованому ERN1 контролі проліферації клітин гліоми, висвітлення у науковій літературі, високий методичний рівень біохімічних досліджень та інші позитивні якості дисертаційної роботи Харькової Анастасії Павлівни, вважаю, що вона відповідає вимогам п.п. 11, 12, 13 "Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника", затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013, № 567, а її автор заслуговує на присудження йому наукового ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності 03.00.04 – біохімія.

Доктор біологічних наук,
професор кафедри біохімії
Національного університету біоресурсів
і природокористування України



Л. Г. Калачнюк

Лірише Калачнюк Л. Г. засвіргую
Угешей секретар
НУБіП України  *Стефан Барановський о.о.*