

Голові спеціалізованої вченої ради
при Інституті біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України
доктору біологічних наук,
старшому науковому співробітнику,
завідувачу відділу хімії та біохімії ферментів
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України
Артему ТИХОМИРОВУ

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора біологічних наук,
члена-кореспондента НАН України, заступника директора з наукової
роботи Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН України
Богдана МОРГУНА
на дисертаційну роботу Дар'ї КРАСНИЦЬКОЇ
«Експресія генів родини Nucleobox у клітинах гліоми за умов гіпоксії та
пригнічення IRE1»,
подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії
з галузі знань 09 – Біологія, за спеціальністю 091 – Біологія

1. Актуальність обраної теми

Дисертаційна робота Дар'ї КРАСНИЦЬКОЇ є актуальною, оскільки присвячена вивченню механізмів регуляції експресії генів транскрипційних факторів родини Nucleobox у клітинах гліобластоми лінії U87MG за умов пригнічення ERN1/IRE1 сигнального шляху стресу ендоплазматичного ретикулума, який відіграє ключову роль у злоякісному рості. Наразі відсутні ефективні методи лікування гліобластом та існує необхідність пошуку принципово нових шляхів боротьби з ними. Добре відомо, що ріст злоякісних пухлин обумовлений змінами в експресії великої кількості генів і тому вивчення ролі ключових транскрипційних регуляторів у цих процесах за участі сигнальних шляхів стресу ендоплазматичного ретикулума та гіпоксії є перспективним напрямком для вибору генів-мішеней для лікування гліобластом.

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

Дисертаційна робота Дар'ї КРАСНИЦЬКОЇ є органічною частиною експериментальних досліджень, які були виконані у відділі молекулярної

біології Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України протягом 2020–2024 рр. у рамках планових досліджень за бюджетними темами: «Молекулярні механізми взаємодії сигнальних шляхів стресу ендоплазматичного ретикулума та гіпоксії в репрограмуванні геному клітин гліоми», № державної реєстрації 0121U100662 (2021–2025 рр.) та «Біохімічні механізми контролю системних міжклітинних взаємодій, регулювання сигнальних мереж та клітинних функцій за умов норми та патологічних станів», № державної реєстрації 0117U002624 (2017–2021 рр.).

3. Ступінь обґрунтованості основних положень, висновків та практичних рекомендацій, сформульованих у дисертації

Основні положення, висновки та практичні рекомендації дисертації Дар'ї КРАСНИЦЬКОЇ витікають із отриманих нею експериментальних результатів і є добре обґрунтованими. Вони опрацьовані статистично різними методами та знайшли достатнє відображення у чотирьох статтях, що вийшли друком у закордонних журналах, представлених у Scopus та PubMed.

4. Достовірність основних наукових положень, висновків і практичних досліджень та одержаних результатів

Достовірність основних наукових положень, висновків, практичних рекомендацій та одержаних результатів не викликає сумнівів, оскільки проведений Дар'єю КРАСНИЦЬКОЮ статистичний аналіз включав визначення нормальності розподілу варіант у групах і перевірявся декількома методами, а основні наукові положення та висновки, як і практичні рекомендації, були зроблені на основі статистично достовірних результатів.

5. Новизна основних наукових положень, висновків і практичних рекомендацій, а також проведених наукових досліджень та одержаних результатів

Наукова новизна проведених Дар'єю КРАСНИЦЬКОЮ наукових досліджень та одержаних нею результатів, а також основних наукових положень, висновків та практичних рекомендацій полягає у виявленні змін рівня експресії генів транскрипційних факторів родини Homeobox у клітинах гліобластоми лінії U87MG за умов сигнального протеїну ERN1 стресу

ендоплазматичного ретикулума, а також їх залежності від виду пригнічення ERN1. Нею вперше показана вагома роль ендорибонуклеазної активності ERN1 у регуляції експресії генів *ZEB2* та *TGIF1* і протеїнкіназної активності ERN1 у контролі експресії генів *PBX3*, *PRRX1*, *PAX6* та *PBXIP1*. Встановлено, що за гіпоксії експресія більшості генів транскрипційних факторів родини Номеобок змінюється по-різному, причому встановлена залежність гіпоксичної регуляції від ензиматичних активностей сигнального протеїну ERN1. Також показано, що експресія більшості генів родини Номеобок у клітинах гліобластоми є чутливими до забезпечення їх глюкозою та глутаміном, причому і цей процес має ERN1-залежний характер. Результати проведеної нею роботи мають важливе наукове значення, оскільки спрямовані на вирішення досить актуальної наукової проблеми щодо молекулярних механізмів регуляції експресії генів ключових факторів транскрипції за умов інгібування сигнального протеїну ERN1 і пригнічення проліферації клітин гліобластоми.

6. Практичне значення одержаних результатів

Практичне значення результатів, отриманих Дар'єю КРАСНИЦЬКОЮ, полягає у виявленні ролі протеїнкіназної активності сигнального протеїну ERN1 у регуляції експресії генів, пригнічення якої може бути причетним до посиленої інвазивності клітин гліоми шляхом індукції експресії генів *PBX3*, *PRRX1*, *PAX6* і *PBXIP1*, а також в ідентифікації мікроРНК, які контролюють експресію мРНК *ZEB2* та *PAX6* на пост-трансляційному рівні та можуть бути потенційними мішенями для пригнічення проліферації клітин гліобластоми. Виявлений нею ERN1-залежний характер чутливості клітин гліобластоми до гіпоксії є підґрунтям для розкриття механізмів резистентності пухлинних клітин до токсичних ефектів гіпоксії за умов стресу ендоплазматичного ретикулума, що важливо для розробки нових способів терапії злоякісних пухлин.

7. Повнота викладу основних наукових положень, висновків та практичних рекомендацій в опублікованих працях

Основні наукові положення, висновки та практичні рекомендації у повній мірі відображені у чотирьох статтях, опублікованих Дар'єю КРАСНИЦЬКОЮ у

закордонних журналах, які представлені у базах Scopus і PubMed, та у п'яти тезах доповідей на престижних наукових конференціях і конгресі.

8. Структура дисертації

Дисертація викладена на 152 сторінках друкованого тексту і містить 47 рисунків та 6 таблиць. Вона має всі необхідні для дисертації розділи – анотацію, вступ, огляд літератури, матеріали та методи досліджень, результати досліджень, обговорення результатів, висновки і список використаних джерел літератури. У вступі досить чітко відображена актуальність обраної теми досліджень, а також мета і завдання досліджень, методи досліджень, наукова новизна отриманих результатів і їх практичне значення, особистий внесок здобувача, зв'язок роботи з науковими програмами, планами та темами, апробація результатів і публікації по темі виконаної роботи.

В огляді літератури проаналізовані сучасні наукові досягнення за темою дисертації на основі 165 джерел, у тому числі й успіхи по пригніченню росту злоякісних пухлин шляхом інгібування ензиматичних активностей сигнального протеїну ERN1. Крім того, обґрунтована актуальність і необхідність проведення досліджень по вивченню експресії генів, направлених на більш детальне вивчення механізмів регуляції транскрипційних факторів, що відіграють ключову роль у рості злоякісних пухлин.

У розділі «Результати досліджень» наведені результати вивчення рівня експресії низки ключових генів транскрипційних факторів родини Homeobox у залежності від пригнічення ензиматичних активностей ERN1. Рівень експресії генів транскрипційних факторів родини Homeobox у клітинах гліобластоми змінювався по-різному і залежав від виду пригнічення ERN1. Це дало можливість встановити, що ендорибонуклеазна активність ERN1 відіграє важливу роль у регуляції експресії генів *ZEB2* і *TGIF1*, а експресія низки інших генів (*PBX3*, *PRRX1*, *PAX6* і *PBXIP1*) контролюється протеїнкіназною активністю цього сигнального протеїну. Це є принципово новим результатом. Приведені також результати впливу гіпоксії на експресію цих транскрипційних факторів, які показали, що ефект гіпоксії на досліджені гени є різним як за величиною, так і за напрямком змін і що пригнічення ERN1 змінює чутливість

експресії переважної більшості досліджених генів до гіпоксії, а це свідчить про залежний від ERN1 контроль гіпоксичної регуляції експресії генів. Так, гіпоксія різко посилювала експресію гена *SPAG4* у клітинах гліобластоми, а пригнічення ERN1 різко зменшувало його чутливість до гіпоксії. Це вказує на можливу участь транскрипційного фактора *SPAG4*, що має про-онкогенні властивості, у зниженні інтенсивності проліферації клітин гліобластоми за умов пригнічення ERN1.

Важливо відмітити, що результати, отримані Дар'єю КРАСНИЦЬКОЮ, детально проаналізовані в розділі «Обговорення результатів», причому узагальнені вони у вигляді яскравих графіків.

Висновки є конкретними. Вони сформульовані чітко і повністю відображають результати всіх основних досліджень.

9. Недоліки дисертації щодо їх змісту та оформлення

Дисертаційна робота Дар'ї КРАСНИЦЬКОЇ містить всю необхідну для дисертації інформацію, написана й оформлена зразково. Вона добре вичитана та не містить помилок. Принципових недоліків у цій роботі не виявлено, але виникли питання дискусійного характеру:

1. Ви показали, що пригнічення саме ендорибонуклеазної активності сигнального протеїну ERN1 зумовлює зниження рівня експресії генів *ZEB2* і *TGIF1*. Який механізм цього впливу: транскрипційний чи пост-транскрипційний?

2. Більшість досліджених Вами генів транскрипційних факторів родини *Notch* мають про-онкогенні властивості, але пригнічення ERN1 знижуючи проліферацію клітин супроводжується зниженням рівня експресії не всіх, а лише деяких із них. Більше того, експресія частини генів при цьому посилюється. Як можна це пояснити?

3. Які механізми гіпоксичної регуляції експресії генів?

4. Ви виявили залежність гіпоксичної регуляції експресії генів від активності ERN1. Через які механізми реалізується ця залежність?

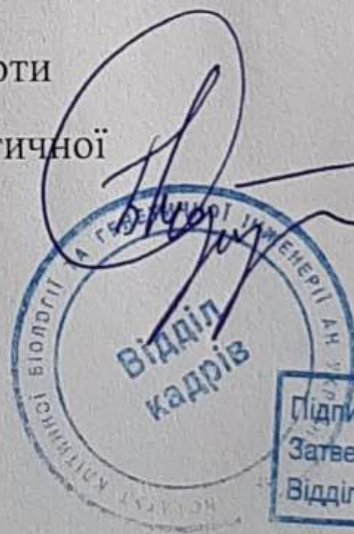
5. Виявлені механізми залежності від стресу характерні лише для клітин гліобластоми чи притаманні також клітинам інших пухлин? Чи будуть ці

механізми регуляції експресії генів працювати у нормальних клітинах? Чи може мати місце органна специфічність такої регуляції?

10. Висновок

Дисертаційна робота Дар'ї КРАСНИЦЬКОЇ «Експресія генів родини Nucleobox у клітинах гліоми за умов гіпоксії та пригнічення IRE1» за своєю актуальністю, науково-теоретичним рівнем, науковою новизною і практичним значенням відповідає всім вимогам Постанови Кабінету Міністрів України «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» від 12 січня 2022 р., № 44, а здобувачка заслуговує на присудження їй ступеня доктора філософії з галузі знань 09 – Біологія, за спеціальністю 091 – Біологія.

Доктор біологічних наук,
член-кореспондент НАН України,
заступник директора з наукової роботи
Інституту клітинної біології та генетичної
інженерії НАН України



Богдан МОРГУН

