

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,
професора, завідувача відділу молекулярної генетики Інституту
молекулярної біології і генетики НАН України

Геннадія ТЕЛЕГЕСВА

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 присвячена вивченню молекулярних механізмів регуляції експресії генів родини Nucleobox у клітинах гліобластоми за умов пригнічення одного із сигнальних шляхів стресу ендоплазматичного ретикулума, а саме ERN1/IRE1, який відіграє важливу роль у рості злоякісних пухлин. Актуальність цієї роботи полягає у відсутності ефективних методів лікування гліобластом і необхідності пошуку принципово нових підходів до боротьби з цими злоякісними новоутвореннями. Ріст злоякісних пухлин тісно пов'язаний з перепрограмуванням геному і тому вивчення ролі ключових транскрипційних регуляторів у цих процесах і механізмів їх контролю сигнальними шляхами стресу ендоплазматичного ретикулума та гіпоксії є перспективним напрямком до пошуку нових шляхів лікування гліобластом.

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

Дисертаційна робота Дар'ї КРАСНИЦЬКОЇ містить результати експериментальних досліджень, виконаних 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 і знайшли достатнє відображення у 4 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 ніяких сумнівів, оскільки проведений Дар'єю КРАСНИЦЬКОЮ статистичний аналіз включав визначення нормальності розподілу варіант у групах і перевірявся декількома методами, а основні наукові положення і висновки, як і практичні рекомендації були зроблені лише 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 за умов пригнічення ERN1, основного сигнального шляху стресу ендоплазматичного ретикулума, і їх залежності від типу нокдауну ERN1. Вперше показана важлива 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 експресія більшості генів транскрипційних факторів родини Homeobox по-різному змінюється за гіпоксії, причому виявлена залежність гіпоксичної регуляції від ензиматичної активності сигнального протеїну ERN1. Виявлено також ERN1-залежний характер чутливості експресії більшості генів родини Homeobox у клітинах гліобластоми до забезпечення їх глюкозою та глутаміном. Результати цієї роботи мають важливе наукове значення, оскільки спрямовані на вирішення актуальної наукової проблеми щодо молекулярних механізмів регуляції експресії генів транскрипційних факторів родини Homeobox за умов інгібування ензиматичних активностей сигнального протеїну IRE1 і обумовлене ним пригнічення проліферації клітин гліобластоми.

6. *Практичне значення одержаних результатів*

Практичне значення одержаних результатів полягає у виявленні ролі протеїнкінази 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 і можуть бути потенційними мішенями для пригнічення проліферації клітин гліобластоми. Виявлений нами 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 підходів до терапії злоякісних пухлин.

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

Основні наукові положення, висновки та практичні рекомендації в повній мірі відображені у 4 статтях, опублікованих Дар'єю КРАСНИЦЬКОЮ у

закордонних журналах, представлених у Scopus і PubMed, та в 5 тезах доповідей на престижних наукових конференціях і конгресі.

8. Структура дисертації

Дисертація викладена на 153 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 чітко відображена актуальність теми досліджень, мета і завдання досліджень, методи досліджень, наукова новизна отриманих результатів і їх практичне значення, особистий внесок здобувача, зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами, апробація результатів та публікації по темі дисертаційної роботи.

В огляді літератури детально проаналізовані сучасні наукові досягнення по темі дисертації на основі 165 джерел, у тому числі й успіхи по пригніченню росту пухлин шляхом інгібування ензиматичних активностей ERN1. Детально обґрунтована актуальність та необхідність проведення досліджень, 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 Nfe2b3 у залежності від пригнічення ензиматичних активностей ERN1. Рівень експресії генів транскрипційних факторів родини Nfe2b3 у клітинах гліобластоми змінювався по-різному і залежав від типу нокдауну ERN1. Встановлено, що в регуляції експресії генів *ZEB2* і *TGIF1* важливу роль відіграє ендорибонуклеазна активність ERN1, а низки інших генів (*PBX3*, *PRRX1*, *PAX6* і *PBXIP1*) - протеїнкіназна активність цього сигнального протеїну, що є принципово новим результатом. Приведені результати впливу гіпоксії на експресію генів цих транскрипційних факторів. Показано, що ефект гіпоксії на різні гени є різним як за величиною, так і за напрямком змін і що ERN1 нокдаун змінює чутливість переважної більшості генів родини Nfe2b3 до гіпоксії, а

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

Варто відмітити, що отримані Дар'єю КРАСНИЦЬКОЮ результати детально проаналізовані в розділі “Обговорення результатів”, причому узагальнені вони у вигляді яскравих графіків.

Висновки є конкретними, чітко сформульовані 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 і оформлена зразково, вона добре вичитана та не містить помилок. Принципових недоліків у цій роботі не виявлено, але є декілька питань дискусійного характеру:

1. Ви показали, що пригнічення протеїнкіназної активності ERN1 є відповідальним за регуляцію експресії деяких генів родини Nucleobox і що пригнічення лише ендорибонуклеазної активності не впливає на їх експресію. Чому?

2. За даними літератури пригнічення знижує проліферацію клітин і ріст пухлин і це корелює зі зниженням рівня експресії про-онкогенних транскрипційних факторів родини Nucleobox, але лише деяких, зокрема ZEB2 і TGIF1, а інших збільшується. Чим це можна пояснити?

3. Як на вашу думку, чим можна пояснити, що нокдаун ERN1, знижуючи проліферацію клітин і ріст гліоми, посилює інвазію?

4. Виявлені Вами закономірності ERN1-залежної регуляції експресії генів є характерними лише для клітин гліобластоми чи і для інших злоякісних пухлин?

5. Ви показали, що протеїнказна активність ERN1 є важливим регулятором експресії деяких генів родини Nucleobox. А чи є дані про інші гени, експресія яких регулюється протеїнкасною активністю ERN1?

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 повністю відповідає 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, професор,

завідувач відділу молекулярної генетики

Інституту молекулярної біології

і генетики НАН України

Геннадій ТЕЛЕГЕСВ

