

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу **Юлії КУЛШ**

**“ВПЛИВ ВУГЛЕЦЕВИХ НАНОЧАСТИНОК НА ЕКСПРЕСІЮ ГЕНІВ
ТРАНСКРИПЦІЙНИХ ФАКТОРІВ ТА мікроРНК”**

представлену на здобуття наукового ступеня доктора філософії

у галузі знань 09 – Біологія, за спеціальністю 091 – Біологія

Дисертаційна робота Юлії КУЛШ присвячена з'ясуванню механізмів дії вуглецевих наночастинок, а саме оксиду графену і одностінних вуглецевих нанотрубок, на експресію залежних від стресу ендоплазматичного ретикулума генів транскрипційних та регуляторних факторів, а також мікроРНК, у нормальних астроцитах людини лінії NHA/TS і клітинах гліобластоми лінії U87MG. Актуальність цієї роботи обумовлена постійно зростаючим застосуванням різних за природою і структурою наночастинок, включаючи оксид графену та вуглецеві нанотрубки, у біології і медицині, зокрема для діагностики та лікування онкологічних захворювань, незважаючи на генотоксичність наночастинок і низку побічних ефектів від їх використання.

Вуглецеві наночастинокки вважаються найбільш перспективним для використання у медицині завдяки їх здатності проникати через гематоенцефалічний бар'єр і надходити до клітин головного мозку, великій їх стабільності та наявності великої кількості модифікованих форм як оксиду графену, так і одностінних вуглецевих нанотрубок. Разом з тим, молекулярні механізми їх впливу на пухлинні клітини і експресію генів у них ще залишаються недостатньо з'ясованими, але значно менше відомо про можливий вплив оксиду графену і одностінних вуглецевих нанотрубок, як і наночастинок іншої природи, на нормальні клітини організму, а особливо на клітини головного мозку.

Уже є дані про численні негативні наслідки застосування цих вуглецевих наночастинок, як і багатьох наночастинок іншої природи, про їх генотоксичність, і це має бути попередженням до застосування вуглецевих наночастинок для лікування злоякісних новоутворень, оскільки потенційна шкода, яка може бути завдана здоровим клітинам організму, може

перевищувати користь від такого лікування. І тому поглиблене і всебічне вивчення молекулярних механізмів дії наночастинок оксиду графену та вуглецевих нанотрубок на нормальні клітини всіх органів і тканин організму має бути першочерговим перед їх використання у біології та медицині. Все це свідчить про важливість та доцільність досліджень, обраних дисертанткою.

В огляді літератури Юлія КУЛІШ представила і проаналізувала дані щодо молекулярних механізмів дії наночастинок на метаболізм, ролі стресу ендоплазматичного ретикулума у цих механізмах та впливу різних наночастинок на експресію генів, у тому числі транскрипційних факторів, регуляторних протеїнів і мікроРНК. Вона критично опрацювала дані літератури великої кількості досліджень провідних спеціалістів світу, які мають не лише безпосереднє відношення до теми дисертації, а і розкривають сучасний стан досліджень по обраній нею темі.

Важливо відмітити, що дисертаційна робота Юлії КУЛІШ виконана із застосуванням сучасних методів біохімії та молекулярної біології, зокрема культивування нормальних астроцитів людини лінії NHA/TS, стабільно трансфікованих субліній клітин гліобластоми з пригніченими ензиматичними активностями сигнального протеїну ERN1, виділення РНК із клітин, визначення спектральних характеристик отриманих препаратів РНК за допомогою спектрофотометра для оцінки їх чистоти, синтез комплементарних ДНК зворотною транскриптазою, а також методи кількісної полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі для оцінки експресії як мРНК, так і мікроРНК, електрофоретичний аналіз ампліфікатів, методи біоінформатики та статистичної обробки результатів.

Мета роботи сформульована чітко і конкретно. Для її досягнення поставлено п'ять ґрунтовних завдань. Об'єктом досліджень були молекулярні механізми дії вуглецевих наночастинок на експресію генів транскрипційних факторів та важливих регуляторних протеїнів і мікроРНК, а також роль стресу ендоплазматичного ретикулума у цих механізмах.

У цій дисертаційній роботі було проведено дослідження впливу оксиду графену на рівень експресії важливих транскрипційних факторів та низки

регуляторних протеїнів у нормальних астроцитах і пухлинних клітинах, а саме клітинах гліобластоми, самої злоякісної пухлини головного мозку. Наукова новизна отриманих Юлією КУЛІШ результатів в тому, що нею вперше було продемонстровано різке підвищення рівня експресії більшості досліджених генів транскрипційних і регуляторних факторів та істотне зниження експресії генів *TP53* та *IDH2*, які мають важливу проти-пухлинну роль, причому у нормальних клітинах виявлена більш висока чутливість експресії усіх досліджених генів до дії наночастинок оксиду графену порівняно з пухлинними клітинами. Для в'яснення ролі стресу ендоплазматичного ретикулума у механізмах дії наночастинок оксиду графену було проведено вивчення дії цих наночастинок на рівень експресії досліджених генів у клітинах гліобластоми з пригніченими ензиматичними активностями сигнального протеїну ERN1 і показано різке зниження ефективності дії оксиду графену на експресію генів. Це свідчить про опосередкованість дії наночастинок оксиду графену через індукцію стресу ендоплазматичного ретикулума, його сигнальних шляхів, зокрема ERN1. Вперше встановлено, що наночастинки оксиду графену порушують експресію і мікроРНК, які можуть бути причетними до пост-транскрипційного контролю експресії мРНК *TP53*, *HBEGF* та *TOB1*.

Подібні зміни в експресії генів низки транскрипційних і регуляторних факторів були виявлені у нормальних астроцитах та клітинах гліобластоми і за дії вуглецевих нанотрубок, причому і в даному випадку була продемонстрована більша чутливість нормальних клітин до гено-токсичної дії цих нанотрубок порівняно з пухлинними клітинами. Також показано, що експозиція ембріонів *Danio rerio* з одно-стінними вуглецевими нанотрубками пригнічує експресію низки мікроРНК, які контролюють проліферацію клітин та процеси нейрогенезу, а це може ініціювати порушення нормального розвитку головного мозку ембріонів.

Отримані Юлією КУЛІШ результати віддзеркалюють не лише наукову новизну цієї дисертаційної роботи, а й мають вагоме практичне значення, яке полягає у виявленні більш високої чутливості експресії генів важливих транскрипційних і регуляторних факторів у нормальних клітинах організму, а

саме нормальних астроцитах, порівняно з пухлинними клітинами, до дії на них різних за структурою вуглецевих наночастинок, що застерігає від їх використання для діагностики та лікування онкологічних захворювань без належного з'ясування реального гено-токсичного впливу наночастинок на нормальні клітини різних органів і тканин організму.

Результати досліджень, які викладені в дисертації Юлії КУЛШ опубліковані у відкритому друку фахових видань у вигляді 14 наукових праць, з них 5 статей в іноземних фахових наукових виданнях, які представлені в базах Scopus і PubMed, та 9 тезах доповідей у матеріалах вітчизняних і міжнародних наукових конференцій.

У дисертаційній роботі відсутні порушення академічної доброчесності. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

Побудова і написання дисертації повністю відповідають вимогам ДАК. Основний науково-експериментальний матеріал викладено на 165 ст., ілюстровано 57 рисунками та 4 таблицями. Список цитованої літератури нараховує 202 посилання.

Хочу відмітити, що схеми, які наведені на рис. 4.1 – 4.7, дуже добре прикрасили роботу і вдало узагальнюють отримані результати.

Слід зазначити, що дисертація написана дуже грамотно не лише з наукової, але й з орфографічної та стилістичної точки зору. При знайомстві з матеріалами дисертації виникають певні питання та побажання, які варто було б врахувати у майбутній експериментальній роботі.

Запитання:

1. Чому при проведенні досліджень Ви використали різні за величиною дози наночастинок оксиду графену і вуглецевих нанотрубок?
2. Як можна пояснити більш виражений ефект наночастинок оксиду графену на експресію генів порівняно з вуглецевими нанотрубками?
3. Чому Ви вважаєте, що дія наночастинок на експресію генів опосередковується переважно стресом ендоплазматичного ретикулума?

4. Як Ви вважаєте, чи є принципова різниця в дії вуглецевих і металевих наночастинок на експресію генів?

Зауваження:

Взагалі дисертація написана доброю науковою мовою, але були виявлені деякі стилістичні та граматичні помилки, які відмічено у тексті.

Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам:

Дисертаційна робота Юлії КУЛІШ у цілому відповідає галузі знань 09 – Біологія за спеціальності 091 – Біологія та відповідає встановленим вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 12.01.2022 року №44. Зроблені запитання і зауваження ні в якому разі не знижують значення отриманих результатів і не впливають на загальну високу оцінку роботи. За актуальністю досліджуваної теми, науковою новизною, теоретичним та практичним значенням, об'ємом експериментального матеріалу, самостійного внеску дослідника і зроблених висновків дисертація дисертаційна робота Юлії є повним та завершеним дослідженням.

Отже, дисертаційна робота Юлії КУЛІШ “Вплив вуглецевих наночастинок на експресію генів транскрипційних факторів та мікроРНК” може бути представлена до офіційного захисту на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091- «Біологія».

Провідний науковий співробітник відділу біохімії м'язів

Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України,

доктор біологічних наук, старший дослідник

Тетяна ВЕКЛІЧ

