

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 ТЕЛЕГЕСЬВА

на дисертаційну роботу Мирослави СЛЮСАР

“Молекулярні механізми регуляції експресії генів синтезу серину у
клітинах гліоми”,

подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії
з галузі знань 09 – Біологія, за спеціальністю 091 – Біологія

1. Актуальність обраної теми

Дисертаційна робота Мирослави СЛЮСАР присвячена вивченню молекулярних механізмів регуляції експресії генів синтезу серину у клітинах гліобластоми за умов пригнічення ERN1/IRE1, основного сигнального шляху стресу ендоплазматичного ретикулума, який відіграє ключову роль у контролі росту злоякісних пухлин. Актуальність цієї дисертації полягає у постійному зростанні захворюваності на гліобластоми і у відсутності ефективних методів їх лікування, а також необхідності пошуку принципово нових підходів до боротьби з цими агресивними злоякісними новоутвореннями. Ріст різних злоякісних пухлин тісно пов'язаний із функціональними змінами геному, а тому вивчення ролі ключових регуляторів цих процесів молекулярних механізмів їх контролю сигнальними шляхами стресу ендоплазматичного ретикулума та гіпоксії на транскрипційному рівні досить перспективним напрямком до пошуку нових шляхів лікування пухлин, у тому числі гліобластом.

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

Дисертаційна робота Мирослави СЛЮСАР містить результати експериментальних досліджень, виконаних у відділі молекулярної біології Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України протягом 2022–2025 рр. у рамках планових досліджень за бюджетною темою: “Молекулярні механізми взаємодії сигнальних шляхів стресу ендоплазматичного ретикулума та гіпоксії в репрограмуванні геному клітин гліоми”, № державної реєстрації 0121U100662 (2021–2025 рр.).

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

Основні положення, висновки та практичні рекомендації дисертації Мирослави СЛЮСАР 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, PubMed та WoS.

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 Мирославою СЛЮСАР 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 Мирославою СЛЮСАР наукових досліджень і одержаних нею результатів, а також основних наукових положень, висновків та практичних рекомендацій полягає у виявленні змін рівня експресії генів синтезу серину у клітинах гліобластоми за умов нокдауну ERN1, основного сигнального шляху стресу ендоплазматичного ретикулума, і їх

вираженої залежності від типу пригнічення ERN1. Вперше показана важлива роль ендорибонуклеазної активності ERN1 у регуляції експресії гена *ATF4* та протеїнкіназної активності ERN1 у контролі експресії генів *PHGDH*, *SHMT1* і *SHMT2*. Встановлено, що експресія більшості досліджених генів по-різному змінюється за гіпоксії, причому виявлена залежність гіпоксичної регуляції від пригнічення ензиматичної активності сигнального протеїну ERN1. Було також виявлено ERN1-залежний характер чутливості експресії більшості генів синтезу серину до забезпечення їх глутаміном та глюкозою клітинах гліобластоми. Результати цієї дисертаційної роботи мають важливе наукове значення, оскільки спрямовані на вирішення актуальної наукової проблеми щодо молекулярних механізмів регуляції експресії генів, відповідальних за синтез серину, за умов інгібування ензиматичних активностей сигнального протеїну ERN1 і обумовлене ним пригнічення проліферації клітин гліобластоми.

6. Практичне значення одержаних результатів

Практичне значення одержаних результатів полягає у виявленні ролі протеїнкіназної та ендорибонуклеазної активностей сигнального протеїну ERN1 у регуляції експресії генів, причетних до синтезу серину, пригнічення яких асоціюється зі зниженням проліферативного потенціалу клітин гліобластоми шляхом зниження рівня експресії генів *PHGDH*, *PSAT1*, *PSPH*, *SHMT2* і *ATF4*, а також в ідентифікації мікроРНК, які контролюють експресію мРНК *PSAT1*, *PSPH* та *SHMT1* 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 гліобластом та інших 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 Мирославою СЛЮСАР у закордонних журналах, представлених у Scopus, PubMed та WoS, і в 7 тезах доповідей, зроблених на конгресі FEBS та інших престижних наукових форумах.

8. Структура дисертації

Дисертація викладена на 166 сторінках друкованого тексту і містить 53 рисунки та 4 таблиці. Вона має всі необхідні для дисертаційної роботи 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 отриманих результатів та публікації по темі дисертаційної роботи.

В огляді літератури детально проаналізовані сучасні наукові досягнення по темі дисертації на основі 205 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 генів синтезу серину, що відіграють ключову роль у рості як гліобластом, так і інших злоякісних пухлин.

У розділі “Результати досліджень” наведені результати вивчення рівня експресії генів синтезу серину у залежності від пригнічення ензиматичних активностей ERN1. Рівень експресії генів, причетних до синтезу і перетворення серину, змінювався по-різному у клітинах гліобластоми і залежав від типу нокдауну ERN1. Було встановлено, що у регуляції експресії гена *ATF4* важливу роль відіграє ендорибонуклеазна активність ERN1, а генів *PHGDH*, *SHMT1* і *SHMT2* – протеїнкіназна активність цього сигнального протеїну, що є принципово новим результатом. При дослідженні впливу гіпоксії на рівень експресії генів, причетних до синтезу і перетворення серину, було показано, що

ефект гіпоксії на рівень експресії генів був різним як за величиною, так і за напрямком змін і що нокдаун сигнального протеїну ERN1 змінює чутливість переважної більшості досліджених генів до гіпоксії. Це свідчить про залежний від стресу ендоплазматичного ретикулума, зокрема його сигнального шляху ERN1 контроль гіпоксичної регуляції експресії більшості генів, причетних до синтезу і перетворення серину, причому нокдаун ERN1 різко посилював ефект гіпоксії на рівень експресії генів *PHGDH*, *PSAT1* і *ATF4*. Менша чутливість контрольних клітин гліобластоми можливо пов'язана із резистентністю цих клітин.

Варто відмітити, що отримані Мирославою СЛЮСАР результати детально проаналізовані в розділі “Обговорення результатів”, причому узагальнені вони у вигляді яскравих графіків.

Висновки є конкретними, чітко сформульовані і повністю відображають основні результати проведених досліджень.

9. Недоліки дисертації щодо їх змісту та оформлення

Дисертаційна робота Мирослави СЛЮСАР містить всю необхідну для дисертації інформацію, написана і оформлена зразково, вона добре вчитана та не містить помилок. Принципових недоліків у цій роботі не виявлено, але є декілька питань дискусійного характеру:

1. Ви показали, що пригнічення ензиматичної активності ERN1 у клітинах гліобластоми збільшує чутливість експресії деяких генів синтезу серину до гіпоксії. Чим це можна пояснити?

2. Чим можна пояснити більш виражену чутливість експресії основних генів синтезу серину *PHGDH*, *PSAT1* і *PSPH* до дефіциту глутаміну порівняно з глюкозою?

3. І розвиваючи далі цю тему, хочу почути Вашу думку з приводу різкого посилення експресії генів *PHGDH*, *PSAT1* і *PSPH* до дефіциту глюкози і особливо глутаміну за умов нокдауну ERN1.

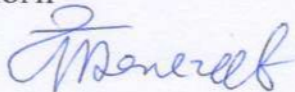
4. Ви показали, що протеїнкізна активність ERN1 відповідальна за регуляцію експресії генів *PHGDH*, *SHMT1* та *SHMT2*, але як пояснити те, що вони змінюються по-різному, у різних напрямках?

5. Ви показали, що в регуляції експресії генів *PSAT1* та *PSPH* задіяні обидві ензиматичні активності сигнального протеїну ERN1. Яким чином це відбувається?

Висновок

Дисертаційна робота Мирослави СЛЮСАР “Молекулярні механізми регуляції експресії генів синтезу серину у клітинах гліоми” 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 ТЕЛЕГЕСЬВ

