

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу

Губернаторової Анастасії Олександрівни

«Роль тристетрапроліну в раку молочної залози людини»,

подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії

в галузі знань **09 - Біологія**

за спеціальністю **091 – Біологія та біохімія**

Актуальність роботи

Рак молочної залози (РМЗ) є одним із найбільш поширених злоякісних новоутворень серед жінок у світі. Незважаючи на значні зусилля в напрямку попередження, ранньої діагностики та лікування цього захворювання, він залишається серйозною глобальною проблемою охорони здоров'я, з мільйонами нових випадків, що реєструються щороку. Так, за даними ВООЗ у 2022 році було виявлено 2,3 мільйона нових випадків, а також зафіксовано близько 685 000. Ці дані підкреслюють необхідність підвищення обізнаності, покращення програм скринінгу та удосконалення лікувальних підходів до РМЗ для зменшення його руйнівного впливу на пацієнтів, їхні родини та громади по всьому світу.

Дисертаційна робота Губернаторової А.О. присвячена актуальній науковій проблемі – дослідженню ролі РНК-зв'язувального протеїну тристетрапроліну (ТТР) в раку молочної залози в контексті клітинної рухливості та інвазії, а також оцінці можливості його використання як біомаркера РМЗ. ТТР регулює експресію таргетних мРНК через зв'язування з їх 3'НТД, що призводить до деградації мРНК, а численні дослідження вказують на інгібуючий вплив ТТР на мРНК генів, асоційованих із злоякісною трансформацією клітин, в тому числі генів, залучених до інвазії та міграції. Проте на сьогодні невідомо, чи може ТТР брати участь в регуляції генів цитоскелету, порушення експресії яких призводить до дефектів у руховій активності клітин, а отже може як підвищувати, так і зменшувати їх здатність до міграції та інвазії. Крім того, на сьогодні ТТР розглядається як потенційний кандидат в біомаркери різних видів раку, в тому числі РМЗ. Представлене дослідження зосереджується на питанні можливості використання ТТР як потенційного маркера різних типів РМЗ, а також оцінці його діагностичної цінності при прогнозуванні виживаності пацієнтів.

Все це разом дозволить розширити сучасні уявлення щодо процесів інвазії та метастазування раку молочної залози та краще зрозуміти молекулярні процеси, що лежать в основі антионкогенної дії ТТР.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота Губернаторової А.О. виконана у рамках науково-дослідних тематик відділу функціональної геноміки та у співпраці з Інститутом молекулярної генетики Чеської Академії Наук й Інститутом фізіології та генетики тварин Чеської Академії Наук.

Оцінка обґрунтованості наукових результатів і висновків, сформульованих у дисертаційній роботі

Матеріали дисертаційної роботи викладено згідно поставленої мети та завдань на основі обраних предмету та об'єкту дослідження. Дисертанткою було детально проаналізовано сучасну літературу щодо стану проблеми дослідження раку молочної залози, молекулярних механізмів метастазування, посттранскрипційної регуляції експресії генів та ролі тристетрапроліну у цих процесах. Детальне вивчення проблеми дозволило дисертантці визначити методи, необхідні для отримання достатньої кількості наукових результатів, для отримання яких Губернаторовою А.О. було використано як різноманітні біоінформатичні методи та підходи, так і велику кількість класичних та новітніх методів молекулярної та клітинної біології. Отримані дисертанткою результати та висновки є чіткими та переконливими як в площині власне експериментальних процедур, так і статистичного аналізу. Висновки дисертаційної роботи відповідають назві, меті та завданням дослідження, повно та чітко відображають отримані дисертанткою результати, є глибоко обґрунтованими та відображають основний зміст роботи.

Наукова новизна представлених результатів, повнота викладення в опублікованих працях

Губернаторовою А.О. вперше виявлено, що надекспресія тристетрапроліну значно знижує рівень мРНК *SH3PXD2A* та *CTTN*, а також значно підвищує рівень мРНК *SH3PXD2B* на моделі тричі негативного раку молочної залози людини. Вперше за допомогою конфокальної мікроскопії живих клітин безпосередньо показано інгібуючий вплив надекспресії ТТР на рухливість клітин та їх здатність до інвазії та направленого руху. Показано, що надекспресія ТТР призводить до зменшення об'ємів клітин та кількості акти нових філаментів. Виконано пошук та аналіз регуляторних елементів в 3'-НТД мРНК вибраних генів, залучених до реорганізації акти нового цитоскелету, та ідентифіковано спільні: сайти зв'язування для РНК-зв'язувальних протеїнів родини Musashi, K-box та AU-збагачені елементи.

Вперше показано вплив доксорубіцину на профіль експресії *ZFP36*, *SH3PXD2A*, *SH3PXD2* та *CTTN*. Показано, що цей антинеопластичний препарат знижує рухливість та значно впливає на морфологію клітин моделі тричі негативного раку молочної залози людини. Вперше детально вивчено профіль експресії *ZFP36* у зразках пухлин молочної залози людини різних субтипів.

Представлені у роботі результати опубліковані у 4 статтях у наукових фахових журналах, та 6 тезах доповідей у збірках матеріалів вітчизняних та міжнародних наукових з'їздів та конференцій. Статті опубліковано у вітчизняних (Biopolymers and Cell) та закордонних журналах, які індексуються у міжнародних базах даних. Закордонні журнали: Cytoskeleton, який має Q2 у 2023р., Gene Reports – Q4 у 2023р., Frontiers in neurology - Q2 у 2023р.

Теоретичне та практичне значення результатів дисертаційного дослідження

Результати досліджень, викладених дисертанткою у представленій роботі, мають високе теоретичне та практичне значення. Представлене дослідження розкриває нові механізми антионкогенного впливу TTP на здатність клітин тричі-негативного РМЗ до рухливості та інвазії: модельні клітини із надекспресією TTP демонстрували низький міграційний та інвазивний потенціал, що супроводжувалося значним зниженням експресії цитоскелет-асоційованих генів SH3PXD2A та CTTN. Ці дані сприяють кращому розумінню молекулярних механізмів, які залучені до захисних функцій клітин, що стоять на шляху злоякісної трансформації та розширюють сучасні уявлення як щодо потенційних механізмів дії TTP як антионкогенного протеїну в цілому, так і в РМЗ.

Також виявлено спірність використання TTP як прогностичного маркера РМЗ, оскільки профіль його експресії варіює залежно від молекулярних та пато-морфологічних характеристик різних типів РМЗ. Крім того, виявлено, що TTP може значно збільшувати свою експресію у відповідь на обробку доксорубіцином, що також ставить під питання діагностичну цінність TTP як біомаркера принаймні для тих пацієнтів з люмінальним А та тричі-негативним РМЗ, що приймали доксорубіцин. Ці результати вказують на важливість подальших досліджень діагностичної цінності TTP та мають важливе практичне значення.

Оцінка змісту дисертаційної роботи, мови, стилю, дотримання норм академічної доброчесності

Дисертаційна робота Губернаторової А.О. викладена українською мовою на 166 сторінках, має стандартну структуру й складається з анотації, вступу, огляду літератури (розділ 1), матеріалів і методів (розділ 2), результатів досліджень та їх обговорення (розділ 3), аналізу та узагальнення результатів (розділ 4), висновків, списку використаних джерел та одного додатку. Робота містить 26 рисунків та 5 таблиць, у переліку використаних джерел 277 посилань. Більшість досліджень виконано дисертанткою особисто.

У вступі викладено дані про актуальність роботи, мету дослідження, завдання, об'єкт та предмет дослідження, методи, наукову новизну, практичне

значення отриманих результатів, особистий внесок здобувача, дані про апробацію результатів дисертації, публікації, структуру та обсяг дисертації.

Першим розділом є огляд літератури, в якому дисертантка наводить детальні відомості щодо стану досліджень РМЗ, молекулярні механізми метастазування, механізмів посттранскрипційної регуляції експресії та механізмів дії ТТР, а також наведено короткі відомості щодо доксорубіцину та його впливу на транскрипційний профіль клітин. Наведені в першому розділі дані одразу дають уявлення про логіку експериментів та план роботи, що буде виконаний у представленому дослідженні.

Другий розділ стосується матеріалів та методів дослідження. Слід зазначити, що цей розділ є дуже великим і налічує 27 пунктів – дисертанткою було використано не тільки велику кількість класичних та сучасних методів молекулярної та клітинної біології, а також різноманітні біоінформатичні методи.

Третій розділ представляє результати та їх обговорення. В цьому розділі Губернаторова А.О. чітко та зрозуміло наводить результати досліджень, які є добре обґрунтованими та підтримуються даними статистичного аналізу. Кожний підрозділ має короткий вступ на початку та закінчується коротким узагальненням результатів, що робить легшим для сприйняття. Рисунки, наведені у цьому розділі, змістовні та якісні, підписи до них чіткі та зрозумілі.

Четвертий розділ містить узагальнення та обговорення отриманих результатів, які коректно співставлені із даними літератури, а також зроблено коректні узагальнення.

Висновки, наведені в дисертаційній роботі Губернаторової А.О., відповідають поставленій меті та завданням дослідження, адекватно та коректно висвітлюють основні результати досліджень.

Список використаних джерел складається з 277 посилань на першоджерела у вітчизняних і міжнародних виданнях.

Таким чином, дисертація Губернаторової Анастасії Олександрівни викладена у науковому стилі, грамотною мовою, відповідає діючим вимогам, що пред'являються до дисертаційних робіт та є завершеною науковою працею, результати якої вирішують актуальну наукову задачу сучасної молекулярної біології та мають високе теоретичне та практичне значення.

Зауваження до дисертаційної роботи

Загалом дисертаційна робота Губернаторової А.О. має високу позитивну оцінку, проте є деякі зауваження та питання, що носять переважно дискусійний характер.

Серед зауважень є наступні:

С.48. Було б доречно, якщо б після наведення загальних відомостей про доксорубіцин було наведено якийсь узагальнюючий абзац.

С. 89. Не дуже зручно представлена інформація в таблиці 3.3.

С. 100. Було б доречніше надати на вісі Х значення концентрацій, а не логарифму концентрацій.

В тексті наявні деяка кількість стилістичних та граматичних помилок, які, втім, не впливають на зміст роботи. Представлена дисертаційна робота має високу позитивну оцінку.

Деякі практичні та дискусійні питання:

1. Розділ 3.1.2 (с. 76) описує отримання клітинної лінії із стабільною експресією ТТР. Під яким промотором було надекспресовано ТТР? Чи перевіряли ви впродовж експериментів цю лінію на предмет втрати надекспресії?

2. С.95, чи визначали рівень експресії ТТР у зразках з та без експресії естрогенового рецептора?

3. С. 99. Наведено попередні дослідження Lee та колег щодо індукції ТТР доксорубіцином. Наскільки рівень експресії ТТР змінювався в їх дослідженнях, та чи співставні значення були отримані у вашому дослідженні?

4. С. 100. Чи розглядали ви можливість дослідження рівнів експресії ТТР та таргетних цитоскелет-асоційованих генів у резистентних до доксорубіцину клітинних лініях?

5. Чи можна припустити індукцію ТТР іншими антинеопластичними препаратами?

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Губернаторової Анастасії Олександрівни «Роль тристетрапроліну в раку молочної залози людини», подана на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 09 - «Біологія» за спеціальністю 091 - «Біологія та біохімія» є самостійною завершеною науковою працею, що містить новітні наукові положення, які обґрунтовані отриманими результатами та не порушує принципів академічної доброчесності. За методичним рівнем виконання, обсягом проведених досліджень, науковою новизною результатів, повнотою публікацій матеріалів дослідження, їх апробації на наукових конференціях дисертаційне дослідження повністю відповідає галузі знань 09- «Біологія», спеціальності 091- «Біологія та біохімія» та сучасним вимогам, які висуваються до дисертацій, затвердженим наказом МОН України «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» від 12 січня 2017 р. №40 та положенню Постанови Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. №44 «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи

наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», » (зі змінами, внесеними згідно із постановою Кабінету Міністрів України №341 від 21.03.2022р. та постановою Кабінету Міністрів України №502 від 19.05.2023р.), а її авторка заслуговує присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 - «Біологія та біохімія»

Рецензент:

доктор біологічних наук, професор
завідувач відділу молекулярної генетики
Інституту молекулярної біології
і генетики НАН України

Геннадій ТЕЛЕГЕСВ

