

ЗАТВЕРДЖЕНО

Наказ Міністерства освіти і науки України

24 квітня 2024 року № 578

Рішення
разової спеціалізованої вченої ради
про присудження ступеня доктора філософії

Здобувачка ступеня доктора філософії

Анастасія ГУБЕРНАТОРОВА, 1993 року народження, громадянка України.

Освіта вища, у 2018 році закінчила з відзнакою ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету ім. Т. Шевченка за спеціальністю Біологія.

Працює на посаді провідного інженера Інституту молекулярної біології та генетики НАН України, м. Київ.

Виконала акредитовану освітньо-наукову програму «Освітньо-наукова програма підготовки докторів філософії в галузі 09 Біологія».

Разова спеціалізована вчена рада, утворена наказом Інституту молекулярної біології і генетики НАН України, м. Київ, від 26 листопада 2024 року №14, у складі:

Голови разової
спеціалізованої
вченої ради

Валерія ФІЛОНЕНКА, доктора біологічних наук, професора, академіка НАН України, завідувача відділу сигнальних систем клітини Інституту молекулярної біології і генетики НАН України

Рецензентів

Ганни ГЕРАЩЕНКО, доктора біологічних наук, старшого дослідника, провідного наукового співробітника відділу молекулярної онкогенетики Інституту молекулярної біології і генетики НАН України

Геннадія ТЕЛЕГЄВА, доктора біологічних наук, професора, завідувача відділу молекулярної генетики Інституту молекулярної біології і генетики НАН України

Опонентів

Людмили ГАРМАНЧУК, доктора біологічних наук, професора, професора кафедри екології та зоології ННЦ «Інститут біології та медицини» КНУ ім. Шевченка

Тараса ЗАДВОРНОГО, кандидата біологічних наук, наукового співробітника лабораторії механізмів медикаментозної резистентності Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України

на засіданні 15 січня 2025 року прийняла рішення про *присудження?* ступеня доктора філософії з галузі знань 09 Біологія **Анастасії Губернаторовій** на підставі публічного захисту дисертації «Роль тристетрапроліну в раку молочної залози людини» за спеціальністю 091 Біологія та біохімія. Дисертацію виконано в Інституті молекулярної біології і генетики НАН України, м. Київ.

Науковий керівник – Сергій Кропивко, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, т.в.о. завідувача відділу функціональної геноміки Інституту молекулярної біології і генетики НАН України.

Дисертація Анастасії Губернаторової є самостійною та ґрунтовною науковою працею, що виконана з дотриманням умов академічної доброчесності результати якої містять важливе теоретичне та практичне значення для галузі Біологія. Робота присвячена вивченню ролі тристетрапроліну (ТТР) в раку молочної залози людини. Вперше детально досліджено можливі шляхи пост-транскрипційної регуляції експресії вибраних цитоскелет-асоційованих генів (всього 49 транскрипційних варіантів), та виявлено високу ймовірність зв'язування мРНК *SH3PXD2A*, *SH3PXD2B*, *CTTN*, *WASL*, *WIPF1* із ТТР. Вперше показано, що надекспресія ТТР в клітинах моделі тричі-негативного раку молочної залози знижує рухливість та інвазивний потенціал цих клітин, призводить до зменшення їх розмірів та потовщенню актинових філаментів із одночасним зниженням експресії *SH3PXD2A* та *CTTN* та підвищенням експресії *SH3PXD2B*. Вперше детально проаналізовано транскрипційний профіль ТТР в зразках раку молочної залози (РМЗ) людини та виявлено спірність використання ТТР як позитивного прогностичного маркеру РМЗ. Вперше показано, що доксорубіцин індукуює експресію ТТР в клітинах MDA-MB-231 та MCF7, а також призводить до змін експресії *SH3PXD2A*, *SH3PXD2B*, *CTTN*, знижує рухливість та призводить до змін морфології актинового цитоскелету в клітинах MDA-MB-231, а направленість цих змін залежить від концентрації. Дисертацію подано у вигляді спеціально підготовленого рукопису та відповідає 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 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.).

Здобувачка має 10 наукових публікації за темою дисертації, з них – 5 статей у міжнародних та фахових українських виданнях, що індексуються в базах даних Scopus Web of Science, 3 з яких – у міжнародних виданнях 2 та 4 квартилю (Q2 та Q4), 2 – в українському фаховому виданні, а також 6 тез доповідей на міжнародних та українських конференціях:

1. Hubiernatorova, A.; Novak, J.; Vaskovicova, M.; Sekac, D.; Kropyvko, S.; Hodny, Z. Tristetraprolin affects invasion-associated genes expression and cell motility in triple-negative breast cancer model. Cytoskeleton (Hoboken, N.J.) 2024. doi:10.1002/cm.21934.
2. Kropyvko, S.; Hubiernatorova, A.; Mankovska, O.; Lavrynenko, K.; Syvak, L.; Verovkina, N.; et al. Tristetraprolin expression levels and methylation status in breast cancer. Gene Reports 2023, 30(November 2022), 101718. doi:10.1016/j.genrep.2022.101718.
3. Hubiernatorova, A. O.; Kropyvko, S. V. Doxorubicin affects expression of the ZFP36 and CTTN genes in MCF7 cell line. Biopolymers and Cell 2024, 40(2), 127–135. doi:10.7124/bc.000AB3.
4. Gerasymchuk, D.; Hubiernatorova, A.; Domanskyi, A. MicroRNAs Regulating Cytoskeleton Dynamics, Endocytosis, and Cell Motility-A Link Between Neurodegeneration and Cancer? Frontiers in neurology 2020, 11, 549006. doi:10.3389/fneur.2020.549006.
5. Hubiernatorova, A.O., Syvak, L.A., Verovkina, N.O., Kropyvko, S.V. ZFP36 expression profiles in breast tumors of different stages and hormonal receptor status. Biopolymers and Cell 2024, 40(4), 298-304. doi: 10.7124/bc.000B05
6. Hubiernatorova, A.; Gerasymchuk, D.; Kropyvko, S. Investigation of posttranscriptional regulation of genes involved in cytoskeleton dynamics. All-Ukrainian Conference of Young Scientists with international participation 2021, 37, 185–244.
7. Hubiernatorova, A.; Kropyvko, S.; Mankovska, O.; Lavrynenko, K.; Syvak, L.; Verovkina, N.; et al. TRISTETRAPROLIN IN CANCER: TREAT OR TRICK? All-Ukrainian Conference on Molecular and Cell Biology with international participation, 2022, 127.
8. Hubiernatorova, A.; Kropyvko, S.; Mankovska, O. Tristetraprolin in breast cancer. Conference of young scientists of the Institute of Molecular Biology and Genetics — 2023 2023, 39, 66.
9. Hubiernatorova, A.; Gerasymchuk, D. MicroRNA and RBP-based regulation of genes involved in the remodelling of actin cytoskeleton. In XIth Parnas Conference – Young Scientists Forum “Biochemistry and Molecular Biology for Innovative Medicine”; 2018; pp 77–84. doi:10.4324/9780429244506-9.

**У дискусії взяли участь (голова, рецензенти, офіційні опоненти, інші присутні)
та висловили зауваження:**

Філоненко Валерій Вікторович, доктор біологічних наук, професор, академік НАН України, завідувач відділу сигнальних систем клітини Інституту молекулярної біології і генетики НАН України. Оцінка позитивна без зауважень.

Геращенко Ганна Володимирівна, доктор біологічних наук, старший дослідник, провідний науковий співробітник відділу молекулярної онкогенетики Інституту молекулярної біології і генетики НАН України надала позитивну рецензію із питаннями та зауваженнями:

- У вступі відсутня назва про теоретичне значення роботи, хоча у пункті «практичне значення роботи» подано опис як практичного, так і теоретичного значення. Також у вступі відсутні назви конкретних тем відділу, за якими виконано представлену дисертаційну роботу. В анотації та вступі дещо по-різному сформульовано мету дисертаційної роботи, хоча по суті вони співпадають.

- С.69 «Як було зазначено в огляді літератури, реорганізація актинового цитоскелету як загалом, так і під час міграції та інвазії – тонко регульований процес, який порушується під час злоякісної трансформації клітин (66,67,201)» - не дуже вдалий вираз - у дисертаційній роботі прийнято посилається на опубліковані роботи вчених (інших, або свої), а не на свій огляд літератури. Більш коректно було б зазначити, що «аналіз сучасних даних літератури, який представлено в огляді літератури...» С.122 (Розділ 4) – подібний вираз «Як згадувалося в огляді літератури».

- С.71 Таблиця 3.1. розташована на 3 сторінки, а назви регуляторних елементів є тільки на першій з них – не дуже зручно аналізувати таблицю у цьому форматі – краще було б колонки та строки поміняти місцями, щоб всі назви регуляторних елементів були на кожній сторінці.

- С.76, с.88 Вираз «З літературних джерел» є невдалим, більш коректно «згідно даних літератури», бо «літературні джерела» - зазвичай художні твори, а не наукові.

Дискусійні питання:

1. З чим, на Вашу думку, пов'язані різні рівні експресії тристетрапроліну у різних підтипах пухлин молочної залози та інших раків?
 2. Який вплив на метастазування може чинити тристетрапролін при його високій та низькій експресії? Можливі молекулярні механізми.
 3. Які властивості можуть бути притаманні раковим клітинам при високій та низькій експресії тристетрапроліну?
 4. На основі отриманих результатів дисертаційної роботи як Ви можете описати вплив тристетрапроліну на механізм утворення інвадоподій.
- 10:20 13.01.2025

Телегєєв Геннадій Дмитрович, доктор біологічних наук, професор, завідувач відділу молекулярної генетики Інституту молекулярної біології і генетики НАН України, надав позитивну рецензію із запитаннями та зауваженнями:

- 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 та одруків, які, втім, не впливають на зміст роботи.

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?

Гарманчук Людмила Василівна, доктор біологічних наук, професор, професор кафедри екології та зоології ННЦ «Інститут біології та медицини» КНУ ім. Шевченка, надала позитивний відгук із запитаннями та зауваженнями:

В тексті дисертації не вказано, в рамках яких тематик виконувалися дослідження.

В огляді літератури наведено сучасні дані щодо молекул, задіяних в реорганізації цитоскелету метастатично активного пухлинного клону, проаналізовано вплив доксорубіцину як хіміопрепарату на ефективність протипухлинної терапії, зокрема його впливу на інвазивний та метастатичний потенціал, однак авторкою наприкінці даного розділу не наголошено щодо актуальності власного дослідження за обраною тематикою; чому власне такі молекули як тристетрапроліни потребують більш глибокого вивчення в якості мішеней, що задіяні в реорганізації цитоскелету клітин метастатичного клону. Також даний розділ переобтяжено скороченнями, які не наведено у Переліку умовних скорочень, що утруднює сприйняття матеріалу.

Деякі питання:

1. Представлені дослідження показують, що рівень експресії тристетрапроліну значно підвищений у пухлинах усіх субтипів, порівняно із умовно-здоровими прилеглими тканинами, хоча він і вищий у зразках HER2-збагаченого субтипів. За таких умов як ви оцінюєте реальну можливість використання експресії ТТР як діагностичного маркера HER2-збагаченого субтипу? І в продовженні даного запитання хотілося б з'ясувати, яким чином і в співпраці з якими клінічними базами проводились дослідження на матеріалі пацієнтів з РМЗ? Також не прописані протоколи щодо відбору клінічного матеріалу та не вказано щодо поінформованих добровільних згод пацієнтів для використання їх біологічного матеріалу?
2. Чи відомі вам якісь діагностичні підходи, які включають в себе використання ТТР як діагностичного або прогностичного маркера? Можливо, для якихось типів раку ТТР вже використовується в клінічній практиці? Наприклад за інших форм раку з високою ступінню інвазії?
3. На рис. 3.22, де ви описуєте вплив доксорубіцину на морфологію клітин, на мікрофотографіях видно деяку кількість некротичних клітин. Чи враховували ви це під час інтерпретації результатів? Чи були ці клітини виключені із аналізу?
4. На блотограмах (рис. 3.15 та 3.16), а саме в панелях із ТТР, чітко видно по дві смуги. Як Ви це можете інтерпретувати?

Задворний Тарас Володимирович, кандидат біологічних наук, науковий співробітник лабораторії механізмів медикаментозної резистентності Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, надав позитивний відгук із запитаннями і зауваженнями:

Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації:

- Тема дисертаційної роботи хоч є лаконічною та водночас надто загальна і могла б бути сформульована більш чітко у відповідності до загальної мети роботи, яка навпаки є надто громіздкою. Окрім того, формулювання мети роботи подані в анотації та вступі різняться.
- Завдання 4 «Визначити рівень експресії ZFP36 в зразках пухлин молочної залози людини різних субтипів та оцінити можливість його використання як біомаркеру певних субтипів пухлин молочної залози людини» варто переформулювати у більш коректну форму.
- У вступі варто надати інформацію щодо розгляду Комісією з питань біоетики Інституту молекулярної біології та генетики НАН України щодо дотримання етичних принципів при виконанні дисертаційного дослідження.
- Розділ 1 «Огляд літератури» бажано завершити невеликим підсумком, що дозволить ще раз наголосити на актуальності проведеного дослідження.
- Не вказано критерії включення/виключення хворих на РМЗ, чий клінічний матеріал було використано у дослідженні.
- У підрозділі 3.3.1. «Формування вибірки зразків пухлин молочної залози людини різних типів» відсутня інформація про гістологічний тип РМЗ та ступінь диференціювання новоутворень, хоча ці характеристики враховуються при виборі тактики лікування.
- У підрозділі 3.3.2. «Визначення профілю експресії ZFP36 в зразках пухлин молочної залози людини різних типів» авторка надає інформацію про залежність рівня експресії в пухлинній тканині від стадії злоякісності, яка на Рис. 3.8. (Ст. 91) позначається як «G1, G2, G3, G4». Що мається на увазі, адже загально прийнято літерою «G» позначати ступінь диференціювання новоутворень? У підписі цього ж рисунку є ще одна помилка, а саме категорія T відображає розмір новоутворення, а не його гістологічні характеристики.
- На рис. 3.18 та 3.21, що теплову карту кореляційних зв'язків рівнів експресії ZFP36, SH3PXD2A, SH3PXD2B, CTTN, WIPF1 та WASL у клітинах ліній РМЗ людини після їх культивування з Dox не представлено значення «p», що не дозволяє зрозуміти статистичну значущість представлених даних.
- Номери рисунків на ст. 91 та ст.92 ідентичні – 3.8
- Підпис до рис. 3.8 на ст. 92 складається із 2 частин – а та б, хоча сам рисунок є єдиною стовпчастою діаграмою
- Таблиця 1.1, що міститься 4 сторінках, та Таблиця 3.1, що міститься на 3 сторінках мають назви строк/стовбців лише на перших сторінках, що ускладнює їх аналіз.
- У роботі трапляються некоректні фрази, формулювання та досить часто відмічається вживання тавтологізмів, яких бажано уникати (Наприклад, ст. 22, 38, 76, 81, 90 та ін.).
- Необхідно провести інвентаризацію використовуваних аббревіатур, оскільки в тексті роботи часто на рівні із введеними скороченнями вживаються повні терміни (Наприклад, ст. 47, 50, 76 та ін.).

Запитання до здобувача:

1. Чи отримували хворі на момент забору клінічного матеріалу терапію в неoad'ювантному режимі? Який матеріал біопсійна тканина / операційний матеріал було використано для дослідження.
2. Якими гістологічними типами були представлені злоякісні новоутворення молочної залози? Який ступінь диференціювання пухлин переважав ?
3. Чи можна розглядати ZFP36 в якості маркера чутливості РМЗ до Dox?
4. Чи є в доступній вам науковій літературі інформація про рівні мРНК ZFP36 в сироватці крові хворих на РМЗ, або ж, можливо, Ви маєте власні дані такого характеру?

Результати відкритого голосування:

«За» 5 членів ради,
«Проти» 0 членів ради.

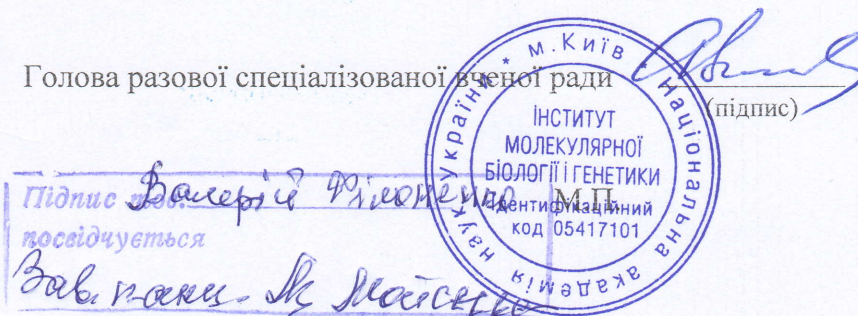
На підставі результатів відкритого голосування разова спеціалізована вчена рада присуджує ступінь доктора філософії в галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія і біохімія.

На підставі результатів відкритого голосування разова спеціалізована вчена рада постановила:

1. Присудити ступень **Анастасії ГУБЕРНАТОРОВІЙ** ступень доктора філософії з галузі знань 09 - Біологія, спеціальність - 091 Біологія і біохімія.
2. Рішення разової спеціалізованої ради затвердити.
3. Підготувати наказ про видачу **Анастасії ГУБЕРНАТОРОВІЙ** диплома доктора філософії та додатка до нього європейського зразка.

Відеозапис трансляції захисту дисертації додається.

Голова разової спеціалізованої вченої ради



Валерій ФІЛОНЕНКО