

ВІДГУК

офіційного рецензента, доктора біологічних наук, професора, члена-кореспондента НАН України, завідувача відділу молекулярної онкогенетики Інституту молекулярної біології і генетики НАН України

Володимира Івановича Кашуби

на дисертаційну роботу Мазова Андрія Валерійовича **«Особливості функціональних зв'язків між ізоформами естрогенового рецептора ESR1 та ізоформами кінази рибосомного білка S6 (S6K1) в клітинах карциноми грудної залози людини MCF-7»**, подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 – Біологія, за спеціальністю 091 – Біологія

Актуальність теми дисертації

Актуальність роботи є безсумнівною та відповідає сучасним пріоритетам розвитку молекулярної онкології. Рак грудної залози залишається провідною причиною онкологічної смертності жінок, а проблема резистентності до антиестрогенової терапії (відповідь лише 35–75%) є однією з найгостріших у сучасній онкології.

Дисертаційна робота Андрія Мазова присвячена з'ясуванню молекулярних механізмів взаємозв'язку між ізоформами естрогенового рецептора ESR1 та протеїнкіназою S6K1, що є критично важливим для розуміння як ліганд-незалежної активації рецептора, так і пригнічення його експресії — двох ключових шляхів формування резистентності та набуття агресивного метастатичного фенотипу (EMT). Особливу новизну та практичну значущість надає дослідження нещодавно ідентифікованої у відділі сигнальних систем клітини ІМБГ НАНУ р60-ізоформи S6K1 протеїнкінази, нечутливої до mTOR-

інгібіторів, та її ролі у регуляції експресії естрогенового рецептора ESR1. Отримані результати мають потенціал для розробки нових терапевтичних стратегій як для ESR1-позитивних пухлин, так і для потрійно-негативних субтипів РГЗ, що повністю відповідає сучасним запитам персоналізованої онкології.

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

Дисертаційна робота виконана у рамках планових науково-дослідних робіт відділу сигнальних систем клітини Інституту молекулярної біології і генетики НАН України за темами: «Особливості структурно-функціональної організації mTOR/S6K-залежного сигнального каскаду в нормальних та злоякісних клітинах: множинність сплайсових ізоформ mTOR та S6K кіназ» (держреєстрація № 0110U000692) та «Особливості функціональної активності ізоформ кінази рибосомного білка S6 (S6K1) та молекулярних механізмів її регуляції в нормі та патології» (держреєстрація № 0121U109973), що підтверджує її відповідність державним науковим пріоритетам.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій дисертації, та їх достовірність.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 129 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, огляду літератури, розділу матеріалів і методів, розділу результатів та їх обговорення, висновків, списку використаних джерел (84 найменування) та додатку. Робота містить 31 рисунок і 4 таблиці, що наочно ілюструють отримані дані. Структура роботи є логічною та відповідає встановленим вимогам.

Оцінка змісту дисертаційної роботи, мови, стилю, дотримання норм академічної доброчесності. На підставі аналізу звіту щодо подібності, отриманого після перевірки дисертаційної роботи на наявність текстових збігів, можна зробити висновок, що дисертаційна робота Мазова Андрія Валерійовича

є результатом його самостійних досліджень. У роботі відсутні елементи фальсифікації, компіляції, фабрикації, плагіату чи неправомірних запозичень. Ідеї, результати та тексти інших авторів коректно цитовані з відповідними посиланнями на джерела.

Мета і завдання дослідження. Мета роботи сформульована чітко, логічно та обґрунтовано. Визначені 9 завдань є взаємопов'язаними, послідовними та повною мірою розкривають поставлену мету. Використаний комплекс сучасних методів (CRISPR/Cas9-редагування, імунопреципітація, qPCR, вестерн-блотинг, аналіз зразків пухлин) є адекватним для вирішення цих завдань.

Наукова новизна отриманих результатів. Наукова новизна роботи є безсумнівною та підтверджується низкою вперше отриманих даних:

- вперше показано, що пригнічення експресії естрогенового рецептора ESR1 (ізоформи p66) в клітинах MCF-7 призводить до транскрипційного пригнічення експресії протеїнкінази S6K1 та зниження її фосфорилювання за Thr389, що негативно впливає на міграційну активність клітин;

- вперше експериментально доведено ізоформ-специфічну регуляцію фосфорилювання ESR1: ізоформи p70 та p60 S6K1 регулюють фосфорилювання ESR1 за Ser167, тоді як ізоформа p85 відповідає за регуляцію фосфорилювання за Ser118;

- вперше виявлено, що експресія мРНК ізоформи p60 S6K1 є пригніченою в пухлинах грудної залози всіх молекулярних субтипів порівняно з умовно-нормальною тканиною, що вказує на її потенційну роль як негативного регулятора пухлинного росту;

- встановлено кореляційний зв'язок між рівнями експресії ESR1 та ізоформ S6K1 у клінічних зразках пухлин різних молекулярних субтипів.

Практичне значення результатів дослідження. Отримані результати мають важливе прикладне значення. Створена автором панель клітинних ліній MCF-7 з диференційною експресією ізоформ ESR1 та S6K1 є цінним інструментом для

подальших доклінічних досліджень. Виявлення специфічних ролей ізоформ S6K1 (зокрема, потенційної антионкогенної ролі p60) обґрунтовує доцільність розробки нових підходів до подолання резистентності до ендокринної терапії, націлених не на загальне інгібування mTOR/S6K1, а на модуляцію балансу конкретних ізоформ.

Особистий внесок здобувача. Згідно з анотаціями до опублікованих робіт та текстом дисертації, особистий внесок А.В. Мазова є визначальним. Автор самостійно здійснив клонування, експресію та очистку рекомбінантних білків, отримання поліклональних антитіл, розробку та впровадження системи CRISPR/Cas9 для редагування гена ESR1, проведення молекулярно-біологічних експериментів (Western blot, qPCR), а також статистичну обробку даних та написання рукописів наукових статей.

Апробація результатів дисертації. Основні положення роботи були представлені та обговорені на низці авторитетних наукових форумів, зокрема на щорічних конференціях молодих вчених ІМБГ НАН України (2021, 2026 рр.), що свідчить про визнання результатів науковою спільнотою.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 3 наукові статті у фахових виданнях України, які індексуються у наукометричній базі Scopus (2 статті у виданнях категорії «А», 1 – категорії «Б»), а також 3 тези доповідей. Обсяг і якість публікацій повністю відповідають вимогам Порядку присудження наукових ступенів для спеціальності 091 «Біологія».

Відповідність теми дисертації профілю спеціальності. Дисертація Мазова А.В. повністю відповідає стандарту спеціальності 091 «Біологія», галузі знань 09 «Біологія».

Зауваження та недоліки.

До дисертаційної роботи можна висунути такі конструктивні зауваження, які не знижують її загального наукового рівня:

- У розділі 3.2 автор справедливо зазначає, що нокаут ESR1 за допомогою CRISPR/Cas9 не призвів до ініціації ЕМП (на відміну від даних літератури для siRNA), і пов'язує це з можливим компенсаторним підвищенням ізоформи p46. Проте механізм, за допомогою якого саме ізоформа p46 запобігає ЕМП у клітинах MCF-7/12, залишається гіпотетичним і потребує більш детального обговорення або подальших експериментальних підтверджень.

- У розділі 3.6 аналіз експресії ізоформ S6K1 у клінічних зразках проведено на рівні мРНК (qPCR). Хоча ці дані є дуже цінними, висновки про функціональний статус набули б ще більшої ваги за наявності хоча б часткової валідації на білковому рівні (наприклад, імуногістохімічного аналізу) для ключових зразків, оскільки рівень мРНК не завжди корелює з рівнем білка через посттранскрипційну регуляцію.

- В англійській версії анотації (Summary) зустрічаються незначні технічні артефакти форматування (розриви слів, наприклад, "p roteín", "g ene"), що є наслідком особливостей експорту з PDF-файлу, проте це не впливає на зміст роботи.

ЗАГАЛЬНИЙ ВИСНОВОК

Дисертаційна робота здобувача ступеня доктора філософії Мазова Андрія Валерійовича на тему «Особливості функціональних зв'язків між ізоформами естрогенового рецептора ESR1 та ізоформами кінази рибосомного білка S6 (S6K1) в клітинах карциноми грудної залози людини MCF-7» виконана на високому науковому рівні, з дотриманням принципів академічної доброчесності. Це завершене наукове дослідження, результати якого — як теоретичні, так і практичні — мають вагоме значення для розвитку галузі знань 09 «Біологія». Дисертація повністю відповідає галузі знань 09 «Біологія», спеціальності 091 «Біологія» та сучасним вимогам, які висуваються до дисертацій, зокрема вимогам чинного законодавства України щодо наукової

новизни, актуальності та практичної цінності, викладеним у п. 6–9 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 січня 2022 р. № 44 (зі змінами), а її автор, Мазов Андрій Валерійович, заслуговує присудження наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія», за спеціальністю 091 «Біологія».

Рецензент:

Доктор біологічних наук, професор,
член-кореспондент НАН України,
завідувач відділу молекулярної онкогенетики
Інституту молекулярної біології
і генетики НАН України

В.І. Кашуба