

Відгук офіційного рецензента

кандидата біологічних наук, старшого наукового співробітника, в.о. завідувача відділу функціональної геноміки Інституту молекулярної біології і генетики

НАН України **Кропивко Сергія Вікторовича**

на дисертаційну роботу 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»** подану на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія».

Рак грудної залози є одним із найбільш поширених злоякісних новоутворень у жінок, а його молекулярна та функціональна гетерогенність визначає відмінності у перебігу захворювання, прогнозі та відповіді на терапію. Особливе значення у розвитку та функціонуванні гормонозалежних пухлин має естрогеновий рецептор ESR1, який бере участь у регуляції широкого спектра генів, пов'язаних із проліферацією, виживанням та диференціюванням клітин. Водночас функціональний стан ESR1 значною мірою визначається його взаємодією з внутрішньоклітинними сигнальними системами, серед яких важливе місце посідає mTOR/S6K1-залежний сигнальний каскад.

Актуальність дисертаційної роботи Мазова А.В. зумовлена необхідністю поглиблення сучасних уявлень про функціональні зв'язки між ESR1 та S6K1 з урахуванням існування різних ізоформ цих білків. Такий підхід є особливо важливим, оскільки окремі ізоформи можуть мати відмінні функціональні властивості, локалізацію та здатність впливати на клітинні процеси. Вивчення ізоформ та функціональної активності S6K1 може сприяти кращому розумінню молекулярних механізмів, що лежать в основі поведінки клітин карциноми грудної залози. Дисертаційна робота безпосередньо відповідає зазначеній проблематиці та спрямована на встановлення особливостей функціонального взаємозв'язку між ізоформами ESR1 та S6K1 у клітинах MCF-7.

Наукова новизна отриманих результатів. До найбільш вагомих результатів дисертаційної роботи слід віднести створення та характеристику клітинних моделей MCF-7 із диференційною експресією ізоформ ESR1 із використанням системи CRISPR/Cas9. Автором встановлено, що пригнічення експресії ESR1 у створених моделях не супроводжується індукцією епітеліально-мезенхімального переходу, що дозволяє доповнити сучасні уявлення про роль ESR1 у регуляції фенотипу клітин карциноми грудної залози.

Важливим результатом є встановлення впливу пригнічення ESR1 на S6K1-залежне сигналювання. Зокрема, показано негативний вплив зниження експресії ESR1 на експресію S6K1 та, відповідно, на загальну активність цього сигнального компонента.

Особливий інтерес становлять результати щодо функціональної специфічності окремих ізоформ S6K1. Автором встановлено, що експресія p70 та p60, на відміну від p85, асоційована з підвищеним фосфорилуванням ESR1 за Ser167, тоді як ізоформа p85 пов'язана з підвищеним фосфорилуванням ESR1 за Ser118.

Заслужують на увагу також результати аналізу експресії ізоформ S6K1 на рівні мРНК у пухлинах грудної залози різних молекулярних субтипів. Отримані дані розширюють уявлення про можливу ізоформно-специфічну організацію S6K1-залежного сигналювання в пухлинній тканині.

Теоретичне значення роботи полягає у розширенні сучасних уявлень про функціональний взаємозв'язок між гормональним рецептором ESR1 та S6K1-залежним сигнальним каскадом. Особливо цінним є встановлення того, що окремі ізоформи S6K1 можуть по-різному впливати на функціональний стан ESR1.

Практична цінність одержаних результатів може полягати у їхньому потенційному використанні в подальших клініко-лабораторних дослідженнях раку грудної залози. Виявлені відмінності експресії окремих ізоформ S6K1 та зміни співвідношення p70/p60 S6K1 у пухлинах різних молекулярних субтипів можуть становити основу для подальшого вивчення цих показників як потенційних молекулярних маркерів, асоційованих із біологічними особливостями пухлини. Отримані результати можуть бути використані для розширеного молекулярного профілювання пухлин, дослідження взаємозв'язку ізоформного складу S6K1 з клініко-патологічними характеристиками та оцінки його потенційного значення для прогнозування перебігу захворювання або відповіді на терапію. Таким чином, результати дисертації створюють експериментальне підґрунтя для подальших трансляційних та клінічних досліджень, спрямованих на визначення діагностичного, прогностичного та предиктивного значення ізоформ ESR1 та S6K1 у пацієнтів із різними молекулярними підтипами раку грудної залози. Водночас отримані дані доцільно розглядати як основу для подальшої клінічної валідації, а не як безпосередньо готовий клінічний тест.

Достовірність отриманих результатів визначається відповідністю використаних методів поставленим завданням, застосуванням взаємодоповнюючих експериментальних підходів, достатнім обсягом отриманого матеріалу та коректним застосуванням методів статистичного аналізу.

У роботі використано як молекулярно-біологічні методи аналізу експресії, так і біохімічні підходи, зокрема імунопреципітацію та вестерн-блот-аналіз. При цьому для характеристики створених антитіл автором проведено їх попередню перевірку та продемонстровано здатність отриманих поліклональних антитіл ефективно імунопреципітувати ESR1 у нативному стані.

Основні результати дисертаційної роботи апробовано на наукових конференціях. За матеріалами дисертації опубліковано три наукові статті, з яких дві — у періодичних фахових виданнях України категорії А та одна — у виданні категорії Б, а також три тези доповідей у матеріалах наукових конференцій.

Дисертаційна робота справляє позитивне загальне враження. Матеріал викладено послідовно, логічно та на належному науковому рівні. Автором опрацьовано значний обсяг сучасної наукової літератури, що дозволило обґрунтовано сформулювати мету і завдання дослідження, а також належним чином інтерпретувати та обговорити отримані експериментальні результати. Представлення матеріалу характеризується внутрішньою послідовністю, аргументованістю та чітким взаємозв'язком між поставленими завданнями, отриманими результатами і сформульованими висновками.

Зауваження

Поряд із високою науковою цінністю та актуальністю отриманих результатів, до дисертаційної роботи можна висловити декілька зауважень і побажань, які мають переважно дискусійний та редакційний характер і не впливають на загальну позитивну оцінку роботи.

1 - У підрозділі 3.1 при дослідженні можливості формування протеїнового комплексу між ESR1 та S6K1 отримано негативний результат. В обговоренні цього результату можна було б дещо детальніше акцентувати увагу на тому, що відсутність детектованої взаємодії за використаних експериментальних умов не виключає можливості функціонального взаємозв'язку між цими білками, який може реалізовуватися опосередковано або мати тимчасовий характер. Сам автор пов'язує відсутність виявленого комплексу, зокрема, з можливою низькою афінністю або короткотривалістю такої взаємодії.

2 - У підрозділах 3.4 та 3.5 наведено цікаві дані щодо особливостей впливу окремих ізоформ S6K1 на фосфорилування ESR1 за Ser118 та Ser167. Для наочності ці результати можна було б узагальнити у вигляді додаткової схеми або підсумкової таблиці.

3 - Результати підрозділу 3.6 щодо експресії ізоформ S6K1 у різних молекулярних субтипах пухлин становлять значний інтерес. Їх обговорення можна було б дещо розширити щодо можливого біологічного значення виявлених відмінностей.

4 - Окремі рисунки містять значний обсяг інформації та декілька груп порівняння. Для зручності сприйняття доцільно було б дещо деталізувати окремі позначення та характеристики клітинних моделей у підписах до рисунків.

Зазначені зауваження мають переважно дискусійний та редакційний характер, не стосуються принципових положень роботи та не знижують наукової цінності отриманих результатів.

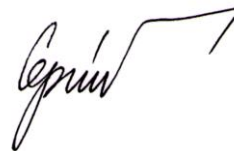
Висновок

Дисертаційна робота 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» є завершеним самостійним науковим дослідженням, у якому вирішено актуальне наукове завдання щодо визначення особливостей функціонального взаємозв'язку між ізоформами ESR1 та S6K1 та їх ролі у регуляції клітинних процесів у клітинах карциноми грудної залози.

Робота характеризується логічною побудовою, належним методичним рівнем, достатнім обсягом експериментального матеріалу та обґрунтованістю основних положень і висновків. Зміст дисертації відповідає заявленій меті та поставленим завданням, а основні результати апробовані на наукових конференціях і опубліковані у фахових наукових виданнях.

Дисертаційна робота оформлена відповідно до вимог наказу Міністерства освіти і науки України № 40 від 12 січня 2017 року та відповідає 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 № 44 від 12 січня 2022 року (зі змінами). Враховуючи актуальність теми, наукову новизну, теоретичне і практичне значення отриманих результатів, достатній обсяг проведених досліджень, їх достовірність та апробацію, дисертаційна робота Мазова Андрія Валерійовича є завершеною кваліфікаційною науковою працею, що відповідає вимогам до дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії, а її автор, Мазов Андрій Валерійович заслуговує на присудження ступеня доктора філософії (PhD) в галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

Рецензент: кандидат біологічних наук,
старший науковий співробітник,
т.в.о. завідувача відділу функціональної
геноміки Інституту молекулярної біології
і генетики НАН України



Сергій Кропивко