

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу аспіранта **Кліща Миколи Васильовича**
«Механізми протипухлинного впливу нових гетероциклічних сполук:
моделювання *in silico*, цитотоксична та імуномодулююча дія
***in vitro* та *in vivo*»,**

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

1. Актуальність теми дисертації

Попри значний поступ у створенні складних методів лікування раку за останні десятиліття, смертність від онкологічних захворювань серед чоловіків і жінок різного віку залишається високою. Запровадження на ринок надзвичайно дорогих моноклональних антитіл і інгібіторів протеїнкінази забезпечує лише незначне збільшення середньої тривалості життя онкопацієнтів лише на 2-5% порівняно з традиційною хіміотерапією. Саме тому розробка нових підходів, спрямованих на точне націлювання пухлино-специфічних вразливостей, є критично важливим напрямом сучасної фармакології та медицини.

У дисертації Кліща Миколи Васильовича представлені результати, які можуть бути використані для вирішення актуальних проблем, описаних вище. Таким чином, дисертаційне дослідження Кліща Миколи Васильовича Механізми протипухлинного впливу нових гетероциклічних сполук: моделювання *in silico*, цитотоксична та імуномодулююча дія *in vitro* та *in vivo*», подане на рецензування для здобуття ступеня доктора філософії, є актуальним, затребуваним і має суттєву теоретичну й практичну цінність.

2. Наукова новизна отриманих результатів

У даній дисертаційній роботі було вперше запропоновано і обґрунтовано механізм цитотоксичної дії нового α -N-гетероциклічного похідного тіосемікарбазону COTI-NMe₂, який базується на реактивації мутантних форм білка p53. Також було запропоновано механізм цитотоксичної та проапоптичної дії нових гетероциклічних сполук - похідних юглону та тіазолу, що забезпечується взаємодією із циклін-залежною протеїнкіназою CDK2. Було досліджено цитотоксичну дію COTI-NMe₂ на злоякісні клітини різних ліній карцином миші та людини, передусім карцином колоректального походження, та проведено порівняння властивостей COTI-NMe₂ із раніше описаними α -N-гетероциклічними похідними тіосемікарбазону. Було продемонстровано участь COTI-NMe₂ у розвитку резистентності до росту трансплантованих пухлин у експериментальних тварин *in vivo* та здатність посилювати фагоцитоз *in vitro*. Таким чином, було продемонстровано здатність низьких доз COTI-NMe₂ індукувати імуногенну загибель пухлинних клітин.

3. Теоретичне та практичне значення результатів дисертації

Таргетна терапія раку із використанням високоселективних інгібіторів протеїнкіназ наразі вважається одним із найперспективніших підходів у лікуванні онкологічних захворювань. Однак, незважаючи на виняткову ефективність, що може призводити до майже повної ремісії навіть у пацієнтів із раком 4-ї стадії, ці препарати виявляються безсилими перед агресивним рецидивом пухлини.

Одним зі способів вирішення цієї проблеми є поєднання терапії на основі інгібіторів протеїнкіназ та інших засобів, які чинять множинну дію на специфічні вразливості пухлинних клітин. У дисертації Кліща Миколи Васильовича зазначається, що поєднання похідних юглону та тіазолу, для яких, згідно з отриманими даними, передбачається здатність до взаємодії із

циклін-залежними протеїнкіназами, та нових похідних тіосемікарбазону, що здатні реактивувати мутантний білок p53 та зумовлювати імуногенність загибелі пухлинних клітин.

Спираючись на результати досліджень, викладених у дисертації Кліща Миколи Васильовича, є підстави вважати, що дія на пухлиноспецифічні вразливості, зокрема відновлення функції білка p53 та реактивація імунної системи за допомогою нових похідних тіосемікарбазону *in vivo*, а також направлена дія новиз похідних тіазолу на активність циклін-залежних кіназ, сприятиме вибіркового знищенню злоякісних клітин із зазначеними ознаками. У перспективі це може стати основою нових, більш ефективних підходів до цільової терапії раку.

4. Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації

У дисертації Кліщ М.В. представлено науково обґрунтовану концепцію щодо біологічної дії α -N-гетероциклічних тіосемікарбазонів, з акцентом на їхню здатність модулювати імунну відповідь та впливати на функціонування мутантного білка p53. Усі наукові положення, висновки та рекомендації ґрунтуються на комплексі власних експериментальних досліджень, проведених із застосуванням адекватного арсеналу сучасних методів молекулярної біології, клітинної імунології, біоінформатики та *in vivo*-моделювання.

Обґрунтованість основних наукових положень підтверджена багатоступеневим аналізом результатів, отриманих із використанням різних експериментальних підходів. Здобувачем проаналізовано вплив вивчених сполук на життєздатність пухлинних клітин, експресію ключових білків, маркерів апоптозу, а також показано їхню здатність ініціювати імуногенну загибель клітин. Висновки логічно випливають із поставлених завдань і отриманих результатів, що свідчить про високий ступінь їхньої наукової обґрунтованості.

Рекомендації щодо подальшого застосування досліджених сполук як потенційних агентів імунотерапії новоутворень є перспективними та аргументованими, з огляду на встановлені механізми їхньої дії. Дисертантом сформульовано практичні підходи до використання отриманих результатів у фармакологічних і доклінічних дослідженнях, що підсилює прикладний потенціал роботи.

Таким чином, наукові положення, висновки та рекомендації, сформульовані у дисертації, мають достатній рівень обґрунтованості, відповідають вимогам до наукових робіт такого рівня та засвідчують самостійність і наукову зрілість здобувача.

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

Дисертаційна робота виконана в межах наукових досліджень відділу Регуляції проліферації клітин і апоптозу Інституту біології клітини НАН України: теми «Роль імуномодуляторної активності у протипухлинній дії традиційних та експериментальних медикаментозних препаратів за їх доставки полімерними наноносіями до різних клітин-мішеней *in vitro* та *in vivo*» (реєстраційний номер 0122U002240, 2022-2026 рр.); українсько-австрійського білатерального науково-дослідного проєкту «Подвійна дія на специфічні вразливості злоякісних клітин новими похідними тіосемікарбазону» (реєстраційний номер 0124U003513, 2022-2024 рр.) згідно з наказом Міністерства освіти і науки України від 07.07.2023 № 826 «Про фінансування спільних українсько-австрійських науково-дослідних проєктів у 2023 році»; НДР «Взаємозв'язок між імуномодуляторною дією і протипухлинною активністю нових гетероциклічних сполук (похідні тіазолу і 4-тіазолідинону)» (реєстраційний номер 0120U103077, 2020-2024 рр.); НДР «Молекулярний дизайн, синтез і доклінічні випробування нових похідних тіазолу і тіазолідину із селективною дією на клітини

мієлопроліферативних новоутворень» (реєстраційний номер 0124U003835, 2024-2026 рр.), підтриманого грантом Національного фонду досліджень України (договір про надання грантової підтримки № 204/0104 від 01 серпня 2024 року).

6. Повнота викладення основних результатів роботи в наукових публікаціях

За темою дисертації опубліковано 8 наукових праць, серед яких 2 статті: 1 у вітчизняному та 1 - у міжнародному журналі, а також 6 тез доповідей на вітчизняних та міжнародних конференціях, конгресах та наукових з'їздах.

7. Оцінка змісту дисертації та її завершеності

Дисертація Кліща Миколи Васильовича є завершеним науковим дослідженням, що охоплює актуальні питання сучасної експериментальної онкофармакології та імунології. Робота присвячена дослідженню біологічної активності нових α -N-гетероциклічних тіосемікарбазонів, зокрема їхнього впливу на мутантні форми білка p53, індукцію імуногенної загибелі клітин та модулювання імунної відповіді.

Зміст дисертації структуровано логічно та послідовно. Робота складається із наступних розділів: «Вступ», «Огляд літератури», «Матеріали і методи досліджень», «Результати досліджень», «Аналіз і узагальнення результатів досліджень», «Висновки», «Список використаних джерел» та додатків 1 та 2. Основна частина дисертації викладена на 99 сторінках, загальний обсяг – 169 сторінок, що відповідає вимогам до кандидатських робіт. У дисертації представлено 23 рисунки, 13 таблиць та використано 148 літературних джерел, що свідчить про ґрунтовність проведеного дослідження.

Отримані результати мають високий рівень новизни та наукової достовірності, підтверджені сучасними методами біоінформатики, клітинної біології та *in vivo*-моделями. Здобувачем доведено перспективність вивчених сполук як потенційних засобів імунотерапії та таргетного впливу на пухлинні клітини. Висновки чітко відображають результати дослідження і відповідають поставленим завданням. Матеріали дисертації пройшли апробацію на низці наукових конференцій і частково опубліковані у фахових виданнях, що підтверджує завершеність наукової праці.

У цілому, дисертаційна робота є цілісним і завершеним дослідженням, що має практичну значущість і відповідає критеріям, встановленим для здобуття наукового ступеня доктора філософії.

8. Відомості про дотримання академічної доброчесності

У поданій дисертації не виявлено порушення академічної доброчесності. Робота не містить ознак академічного плагіату чи інших порушень, які могли би поставити під сумнів самостійний характер виконання дисертантом представленої наукової роботи. Це дозволяє зробити висновок про дотримання автором вимог академічної доброчесності.

9. Питання, зауваження до змісту та оформлення дисертації.

Відзначаючи серйозний науковий та методологічний рівень роботи, а також її загалом належне, згідно діючих вимог, оформлення, до роботи виник ряд зауваг та запитань:

1. Попри те, що дисертація містить численні посилання на сучасні публікації, аналіз результатів не містить достатнього порівняння з аналогічними роботами, проведеними в інших дослідницьких групах. Саме тому, доцільно розширити обговорення літератури з акцентом на порівняння отриманих результатів з даними конкурентних досліджень, що дозволить краще оцінити інноваційність і практичне значення запропонованого підходу.

2. Чи може методика забарвлення трипановим синім, яка дозволяє оцінити загальну життєздатність клітин, забезпечити диференціацію типів загибелі клітин у контексті дослідження імунної загибелі клітин (ІЗК)? Чи не могло б застосування додаткових методів, таких як Annexin V/PI або TUNEL-аналіз, підвищити достовірність отриманих висновків щодо типів загибелі клітин, зокрема апоптозу та некрозу?

3. Результати комп'ютерного прогнозування потенційних мішеней досліджуваних сполук (SwissTargetPrediction) є важливим доповненням до експериментальної частини, однак потребують обережної інтерпретації. Було б доцільно або підтвердити отримані дані експериментально, або вказати на ймовірні похибки прогнозу.

4. Висновок №5 до дисертаційної роботи базується переважно на результатах докінгу та молекулярної динаміки, які свідчать про стабільність комплексу COTI-NMe2 з p53. Проте твердження про реактивацію білка потребує додаткової експериментальної верифікації, зокрема через оцінку активації p53-залежних транскрипційних програм або відновлення апоптичного каскаду.

У цілому, висловлені зауваження не є визначальними, не зменшують наукову новизну і практичну значущість результатів та не впливають на загальну високу оцінку дисертаційної роботи. Вважаю, що здобувач Кліщ Микола Васильович зробив цінний особистий внесок у науковий напрям, пов'язаний із молекулярним дизайном та доклінічною валідацією нових гетероциклічних сполук як таргетних та імуномодуючих протипухлинних агентів (реактивація мутантного p53, інгібування CDK2, індукція імуногенної загибелі пухлинних клітин).

10. Висновок про дисертаційну роботу. Вважаю, дисертаційна робота здобувачки ступеня доктора філософії Кліща Миколи Васильовича на тему «Механізми протипухлинного впливу нових гетероциклічних сполук: моделювання *in silico*, цитотоксична та імуномодуюча дія *in vitro* та *in vivo*» за своєю актуальністю, ступенем новизни, постановкою та способом вирішення поставлених питань, теоретичним та практичним підґрунтям та обґрунтованістю одержаних результатів відповідає 5 вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради за вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» (Постанова Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44) та наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» (зі змінами від 12.07.2019 р.), а її автор, Кліщ Микола Васильович, заслуговує на присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 09 Біологія зі спеціальності 091 Біологія.

Рецензент

старший науковий співробітник

відділу аналітичної біотехнології

Інституту біології клітини НАН України, д.б.н., ст.досл.

Наталія СТАСЮК