

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу Івасечко Ірини Ігорівни на тему: «Антинеопластична дія нових похідних тіазолу і тіазолідинону та їх водорозчинних форм», яка виносить на захист для здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 - Біологія.

Актуальність теми дослідження. Незважаючи на значний прогрес у галузі медицини та біології раку, успішність результатів протипухлинної терапії в клінічній онкології все ще залишається дуже обмеженою. Головно, причинами цього є надмірна токсичність, недостатня селективність доступних на даний момент хіміотерапевтичних препаратів, а також розвиток резистентності. Хоча нові технології та методи лікування онкологічних хвороб постійно розвиваються, рак за причиною смертності посідає одне із перших місць у світі. Це ставить перед науковцями і медиками виклик для розробки нових та більш ефективних методів лікування. *In vitro/ex vivo* тестування сполук з протипухлинною активністю відіграє важливу роль у виборі найперспективніших молекул для подальшого клінічного дослідження і забезпечення ефективного та безпечного лікування ракових захворювань. Тому тема дисертаційної роботи Івасечко Ірини Ігорівни є надзвичайно актуальною.

Мета й завдання роботи відповідають назві та є логічними та чіткими.

Методи дослідження. Сучасні та класичні методи клітинної та молекулярної біології, використані у роботі, зокрема, МТТ-тест, клоногенний тест у напіврідкому агарі, флуоресцентна мікроскопія, УФ-спектрометрія, проточна цитофлуориметрія, Вестерн-блот аналіз, молекулярне моделювання та ін., відповідають меті та завданням дисертації. Безперечною перевагою рецензованої роботи є те, що для порівняння ефективності протипухлинної та цитотоксичної дії *in vitro* досліджуваних сполук використовувалися класичні препарати, такі як доксорубіцин та цисплатин, відповідні інгібітори білка PARP, порівнювалися пухлинні, псевдонормальні та нормальні клітини ссавців, а також було проведено дослідження гострої токсичності найбільш перспективних новосинтезованих речовин за умов *in vivo*.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота була виконана як частина досліджень відділу регуляції проліферації клітин і апоптозу Інституту біології клітини НАН України та підтримана грантом Національного Фонду Досліджень України № 2020.02/0035 «Тіазолідинони з поліфармакологічними властивостями: молекулярний дизайн, синтез та механізми дії протиракових, протизапальних та протимікробних засобів»

Наукова новизна отриманих результатів. У дисертаційній роботі встановлено, що сполуки ряду піридин-тіазолів здатні індукувати генетичну нестабільність у пухлинних клітинах. Показано, що нові похідні не чинять

сильної цитотоксичної дії на псевдонормальні та нормальні клітинні лінії. Вперше виявлено, що механізм дії сполуки Les-6485 пов'язаний із інгібуванням білка PARP, задіяного у репарації пошкоджень ДНК. Показано, що ця сполука взаємодіє із PARP за новим механізмом, не характерним для інших інгібіторів PARP, а також найсильніше взаємодіє із одонитковою ДНК та чинить синергічну дію із інгібітором MGMT.

Вперше встановлено, що сполуки ряду тіопірано-тіазолів з нафтохіноновим фрагментом здатні електростатично та за типом інтеркаляції взаємодіяти із ДНК та у механізм їхньої дії залучений білок p53. В межах виконаної роботи показано, що цитотоксична активність 19-ти (1-19) досліджуваних похідних сполук залежить від їх структури та більш активними є ті, які містять ОН-радикал у нафтохіноновому фрагменті (речовини 1-13).

Показано, що сполуки-лідери обох груп похідних тіазолу, використаних у роботі, а саме Les-6485 та сполука 10, не спричиняють гострого токсичного впливу на організм мишей лінії C57BL/6.

Практичне значення результатів дисертації полягає у тому, що досліджені у роботі механізми протипухлинної активності нових похідних тіазолів різної структури можуть бути використані як підґрунтя для створення нових ефективних антинеопластичних сполук – кандидатів у лікарські засоби.

Особистий внесок дисертантки. Робота містить положення і висновки, сформульовані Івасечко І.І. особисто. Планування проведення досліджень для виконання завдань було виконано спільно із науковим керівником чл.-кор. Стойкою Р.С. Представлені у дисертації результати наукових досліджень виконано у співпраці зі співавторами публікацій. Дисертантка брала участь у плануванні та виконанні усіх поставлених експериментальних завдань, а також у підготовці публікацій за темою дисертації. У роботі наводяться необхідні посилання на вклад інших співавторів публікацій.

Апробація результатів дисертації. Основні наукові результати дисертаційної роботи висвітлено у 12-ти наукових працях, з них: 4 статті у фахових закордонних наукових виданнях з кuartилями Q1-Q2 та 8 тез доповідей на міжнародних наукових конференціях в Україні і за кордоном.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація містить наступні розділи: «Анотація», «Вступ», «Огляд літератури», «Матеріали і методи досліджень», «Результати досліджень та їх обговорення», «Аналіз та узагальнення результатів досліджень», «Висновки», «Список використаних джерел» та «Додаток 1»; оформлена згідно до останніх вимог, передбачених Наказом Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 року № 40 зі змінами, внесеними згідно з Наказом Міністерства освіти і науки № 759 від 31 травня 2019 року.

Робота викладена на 159 сторінках друкованого тексту, містить 37 рисунків і 13 таблиць. Список цитованої літератури налічує 141 джерело.

Окремі дискусійні питання і зауваження:

1. У тексті дисертаційної роботи є граматичні і синтаксичні помилки та одруки, які потребують виправлень.
2. Назви дослідних речовин та показників у роботі слід уніфікувати та розшифровувати їх при першому згадуванні у тексті. Зокрема, трапляються аббревіатури без пояснення, є кілька варіантів написання назви флюзапаріб.
3. На багатьох рисунках та у таблицях потрібно замінити англомовні підписи і вказати розміреності одиниць.
4. Зустрічаються не зовсім вдалі терміни та формулювання, ймовірно, як результат дослівного перекладу з англійської мови, які варто підкоригувати.
5. Експериментальні умови, представлені на рис.6 аж у 10 репрезентативних зображеннях морфологічних змін клітин після інкубації з досліджуваними чинниками, дуже побіжно описані лише у самому тексті дисертації і відсутні в підписі, що дуже утруднює сприйняття. Також складно ідентифікувати багатоядерні гігантські клітини. Те ж саме стосується і всіх інших рисунків із мікрофотографіями забарвлених клітин.
6. До рисунку 9 варто додати репрезентативні фотографії ДНК комет, які аналізувалися в ході досліджу, що додало б наочності лише графічному представленню результатів.
7. На рис. 14 є неузгодженість між числовими даними концентрацій легенди, осі x та описом у тексті, а також відсутній стовпчик даних по флюзапарібу при концентрації 5 мкМ.
8. На рис. 16 слід вказати молекулярні маси досліджуваних Вестерн-блот аналізом білків.
9. Оскільки експериментальна частина дисертаційної роботи містить два розділи досліджень різних груп похідних тіазолу (а саме 3.1 та 3.2), в яких використовувалися аналогічні методи, зустрічається певне дублювання тексту, зокрема щодо експериментів *in vivo* у випадку введення доксорубіцину як контролю. Подібна ситуація і у випадку дослідження протипухлинної активності сполук *in vitro* в рамках протоколу Національного інституту раку (США).
10. Відсутній логічний ланцюжок пояснення, чому із дуже чисельної панелі пухлинних клітин для дослідження похідних піридин-тіазолів обрано саме лінію MCF-7, на якій було проведено клоногенний тест, а згодом дослідження здатності до флуоресценції, а морфологічні зміни, індуковані новими похідними піридин-тіазолу, аналізувалися уже на лінії KB3-1? Таке ж питання

виникає і у випадку другої групи речовин - тіопірано-тіазолів з нафтохіноновим фрагментом, де використовувалася уже лінія MDA-MB-231.

11. Деякі окремі невеликі рисунки, зокрема у розділі 3.2.4, які представляють результати вимірювань проточною цитометрією активності ініціюючих каспаз 8 і 9 та ефекторних 3 /7 (рис. 27, 30 та 31, відповідно), можна об'єднати в один, що спростить аналіз і дещо структурує дисертаційну роботу.

12. Розділи 3.2.2 та 3.2.7 містять лише результати, отримані в ході досліджень, потрібно додати ще їх обговорення та висновок.

13. Вами показано, що попередня інкубація клітин MCF-7 з інгібітором PARP1 знижує більш ніж у 3 рази їх чутливість до молекули Les-6485. Чим, крім констатованого у роботі факту, міг бути спричинений такий ефект?

14. Розділ 3.1.10. Інгібування PARP1 в клітинах лінії MCF-7. “Інгібування PARP1 *in vitro* досліджували, попередньо проінкубувавши клітини MCF-7 з флюзапарібом”. Чи використовувався флюзапаріб у роботі в інших експериментах як позитивний контроль для порівняння дії із дослідженим у роботі потенційним PARP інгібітором Les-6485?

15. У списку використаних джерел публікації потрібно привести до одного стилю цитування.

Вищеперелічені зауваги можуть бути легко усуненими і не впливають на загальний високий науковий рівень виконання дисертаційної роботи.

Загальний висновок. Після оцінки дисертаційної роботи Івасечко Ірини Ігорівни на тему: «**Антинеопластична дія нових похідних тіазолу і тіазолідинону та їх водорозчинних форм**» вважаю, що за актуальністю досліджуваної проблеми, науковим рівнем кваліфікаційної праці і публікацій здобувача, високим методологічним рівнем виконання, науковою новизною та практичним значенням отриманих результатів робота може бути представлена до розгляду на разову спеціалізовану вчену раду по захистах дисертацій за спеціальністю 091 – Біологія на здобуття наукового ступеня доктора філософії.

м. н. с. відділу сигнальних механізмів клітини
Інституту біології клітини НАН України,
кандидат біологічних наук

Вовк О. І.