

Рішення
разової спеціалізованої вченої ради
про присудження ступеня доктора філософії

Здобувачка ступеня доктора філософії Надії Скорохід,
1973 року народження, громадянки України,
освіта вища: закінчила у 1995 році Львівський національний університет імені Івана Франка
за спеціальністю біохімія,
навчається в аспірантурі в Інституті біології клітини Національної академії наук України, м. Львів,
виконала акредитовану освітньо-наукову програму «Освітньо наукову програму» Інституту біології клітини НАН України.

Разова спеціалізована вчена рада, утворена наказом Інституту біології клітини Національної академії наук України, м. Львів від «09» травня 2025 року № 47/ОД, у складі:

Голови разової

спеціалізованої вченої ради – Наталія Стасюк, доктор біологічних наук, старший науковий співробітник відділу аналітичної біотехнології, заступник директора з наукової роботи, Інститут біології клітини НАН України

Рецензентів -

Олег Стасик, доктор біологічних наук, старший науковий співробітник відділу сигнальних механізмів клітини, Інститут біології клітини НАН України

Михайло Гончар, доктор біологічних наук, професор, завідувач відділу аналітичної біотехнології, Інститут біології клітини НАН України

Офіційних опонентів -

Руслана Іскра, доктор біологічних наук, професор, професор кафедри фізіології людини і тварини, Львівський національний університет імені Івана Франка

Сергій Шульга, доктор біологічних наук, професор, старший науковий співробітник, завідувач лабораторії промислової та харчової біотехнології відділу геноміки і молекулярної біотехнології, заступник директора з наукової роботи ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України»,

на засіданні «01» липня 2025 року прийняла рішення про присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 09 – біологія Скорохід Надії

на підставі публічного захисту дисертації «Біологічна ефективність багатофункціональних наноматеріалів для адресної доставки традиційних та експериментальних протипухлинних препаратів»

за спеціальністю 091 – біологія.

Дисертацію виконано в Інституті біології клітини Національної академії наук України, м. Львів.

Науковий керівник Ростислав Стойка, доктор біологічних наук, професор, член-кореспондент НАН України, завідувач відділу регуляції проліферації клітин і апоптозу, Інститут біології клітини Національної академії наук України.

Дисертацію подано у вигляді спеціально підготовленого рукопису українською мовою, який повністю відповідає вимогам до оформлення дисертації, затвердженим Наказом МОН

У дисертаційній роботі вперше з'ясовано молекулярні механізми цитопротекторної активності канабіметика N-стеароїлетаноламіну за дії доксорубіцину та вивчено протипухлинний потенціал алкільних дериватів алкалоїда берберину. Також показано підвищення ефективності дії цих препаратів шляхом їхньої іммобілізації на нанорозмірних носіях полімерної природи. Встановлено, що збільшення цитотоксичної активності Dх-PC-NSE *in vitro* зумовлене двома різними механізмами: посиленням проникненням у клітини-мішені завдяки підвищеній ліпофільності системи доставки препарату, а також посиленням за допомогою PC-NSE вивільненням Dх у цитозолі пухлинних клітин.

Виявлене дозозалежне посилення ко-іммобілізованим N-стеароїлетаноламіном терапевтичної активності Dх щодо двох типів мишачих пухлин: лімфоми NK/Ly та лейкозу L1210. Функціоналізація полімерної платформи за допомогою NSE для цільової доставки доксорубіцину дозволяє значно зменшити токсичний вплив останнього на організм лабораторних мишей. NSE сприяє нормалізації гематологічних і біохімічних показників, покращує виживаність мишей і нормалізує їхню масу. При цьому показники морфо-функціонального стану тварин за дії вільного доксорубіцину і його кон'югованої форми з полімерним носієм були значно порушені.

Вперше доведено ефективність іммобілізації берберину та 9-О-октил-берберину на трьох різних типах полімерних носіїв з гетероатомними бічними ланцюгами, що забезпечують їхню водорозчинність та біодеградабельність. Дослідження життєздатності клітин *in vitro* показали, що іммобілізація берберину та його синтетичного похідного на полімерних носіях призводить до посилення токсичної дії щодо пухлинних клітин, порівняно з вільними формами. Ступінь зниження життєздатності клітин під впливом наноконкомплексів берберину (PC-PEG-Berb, PC-pEtOx-Berb, PC-PEGMA-Berb) залежить від типу полімерного носія. У той же час, нативні полімерні носії (PC-PEG, PC-pEtOx, PC-PEGMA) у вільній формі не викликають значного зниження життєздатності клітин у концентраціях, необхідних для доставки 50 мкМ берберину, що свідчить про їхню біосумісність.

Використання наноконкомплексів значно покращує розчинність алкалоїду берберину та 9-О-октил-берберину, підвищує їхню біодоступність і забезпечує кращий терапевтичний ефект щодо лікування меланоми B16/F10 у мишей, сприяючи повному одужанню 60% тварин і нормалізації їхніх життєво важливих показників.

Усі три типи досліджуваних полімерів не мають вираженого цитотоксичного впливу на різні типи пухлинних і псевдонормальних клітинних ліній навіть у надвисоких концентраціях (>50 мг/мл) і не викликають негативних побічних ефектів у тварин. Найкращі показники біосумісності виявив полімерний носій VEP-co-GMA, функціоналізований полі-2-оксазоліном, який має потенціал для подальшого використання як платформа для доставки протипухлинних препаратів.

Проведене дослідження твердих ліпідних магнітних частинок mag. SLPs показало їхній значний потенціал у протипухлинній терапії завдяки високій цитотоксичності та здатності долати множинну лікарську резистентність.

Отримані результати можуть слугувати теоретичною основою для підготовки фахівців у галузі молекулярної біології і медицини, та практичною основою для впровадження розроблених підходів у клінічну онкологію як альтернативної схеми цілеспрямованої доставки традиційних та експериментальних протипухлинних препаратів.

Здобувачка має 8 наукових публікацій за темою дисертації, з них 2 статті у наукових фахових виданнях, що входять до WoS або Scopus та 1 розділ монографії, 5 тез доповідей в збірниках матеріалів конференцій:

Статті у виданнях, проіндексованих у базах даних Web of Science Core або Scopus:

1. Panchuk* R.; Skorokhyd* N.; Chumak V.; Lehka L.; Kosiakova H.; Horid'ko T.; Hudz I.; Hula N.; Riabtseva A.; Mitina N.; et al. Cannabimimetic N-Stearoylethanolamine as "Double-Edged Sword" in Anticancer Chemotherapy: Proapoptotic Effect on Tumor Cells and Suppression of Tumor Growth versus Its Bio-Protective Actions in Complex with

Polymeric Carrier on General Toxicity of Doxorubicin In Vivo. Pharmaceutics 2023, 15, 835 (IF- 4,9, Q1, Pharmacology & Pharmacy). <https://doi:10.3390/pharmaceutics15030835>. * – Equal contribution

(Дисертантка виконала основні дослідження протипухлинної активності in vitro нанорозмірних комплексів, спільно із науковим керівником та співавторами сформулювала ідею цієї роботи, узагальнила результати біологічної частини та підготувала їх до публікації).

2. Świątek M., Panchuk R., Skorokhyd N., Černoch P., Finiuk N., Klyuchivska O., Hrubý M., Molčan M., Berger W., Trousil J., Stoika R., Horák D. Magnetic Temperature-Sensitive Solid-Lipid Particles for Targeting and Killing Tumor Cells Frontiers in Chemistry. 2020. Vol. 8, No. 205. P.1–18 (IF – 3,8, Q1). <https://doi:10.3389/fchem.2020.00205>, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7161697/>

(Скорохід Н.Р. виконала дослідження протипухлинної активності in vitro досліджуваних наночастинок та спільно із співавторами брала участь у аналізі та описі отриманих даних).

Розділ у монографії:

1. Посилення ефективності дії доксорубіцину його іммобілізацією на полімерному носії, біофункціоналізованому N-стеаройлоетаноламіном / Панчук Р.Р., Чумак В.В., Скорохід Н.Р., Гула Н.М., Гудзь Є.А., Мітіна Н.Є., Заїченко О.С., Стойка Р.С. // Розділ монографії «Багатофункціональні наноматеріали для біології і медицини: молекулярний дизайн, синтез і застосування» / Редкол.: Р.С. Стойка (гол. ред.); НАН України. – К.: Наукова Думка, 2017. – 368 с., 24 с. іл. – С. 97-108.

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

Рецензент – Михайло Гончар, доктор біологічних наук, професор, завідувач відділу аналітичної біотехнології, Інститут біології клітини НАН України, *надав позитивну рецензію із зауваженнями та питаннями:*

Дискусійні питання та зауваження.

оцінюючи роботу позитивно, було б доречним висловити певні зауваження та побажання, усунення яких додало б більшого розуміння суті проведеного дослідження:

- 1) у роботі не зовсім зрозумілий підхід у підборі полімерних носіїв для створення нанокон'югованих препаратів – чисто емпіричний? можна було б застосувати описані в літературі біодеградабельні полімери (природні чи синтетичні), які активно створюються в останні роки;
- 2) часто в тексті дисертації некоректно використовуються поняття концентрації та дози діючого агента (наприклад, у тексті використовується слово "доза", а у відповідних рисунках на осі - "концентрація" (без зазначення у підписі об'єму внесеного препарату для оцінки дози);
- 3) оскільки авторка використовувала діалізний метод для оцінки стабільності комплексу dx-полімерний носій-nse, то цілком логічно було б провести кількісне визначення константи зв'язування за методом Скетчарда, який часто використовується для характеристики стабільності комплексів низькомолекулярних лікарських речовин з білками плазми крові, напр., альбуміну;
- 4) на с. 102 зазначено: «часозалежна динаміка вивільнення вільного DX, DX-PC ТА DX-PC-NSE через діалізну мембрану показала, що найшвидше вивільнення спостерігається для вільного доксорубіцину, який досягає близько 90% вивільнення менш ніж за 100 хв. це вказує на високу швидкість дифузії нативного доксорубіцину через діалізну мембрану». Авторка не зовсім адекватно пояснює ці дані, оскільки концентрація низькомолекулярного доксорубіцину (ліганду комплексу) в діалізаті визначається не так швидкістю дифузії, як величиною константи стабільності комплексу, що ще раз свідчить про необхідність кількісної оцінки стабільності комплексів (див. попереднє зауваження).

Рецензент – Олег Стасик, доктор біологічних наук, старший дослідник, завідувач відділу сигнальних механізмів клітини Інституту біології клітини НАН України, *надав позитивну рецензію із зауваженнями та запитаннями:*

1. Робота написана та оформлена загалом ретельно та акуратно. Однак необхідно доопрацювати текст, зокрема попрацювати над чіткішою побудовою окремих речень, чи логічних побудов окремих абзаців чи більших фрагментів тексту.
2. В Огляді літератури цілий ряд рисунків без вказання джерела!
3. У Розділі Методи досліджень зустрічаються сленгові вирази, - потрібно вичитати та поправити.
4. Окремі розділи роботи повинні починатись із нової сторінки, - поправити.
5. Бажано рисунки звести до одного стилю, - або колір. Або чорно-біла заливка.
6. Чимало рисунків потребують масштабування згідно вимог до оформлення дисертаційних робіт (розмірів шрифтів тощо)
7. Стор. 160 «Цей алкалоїд (берберин) є неефективним щодо терапії меланоми B16F10, оскільки не інгібує ріст пухлини, а, навпаки, призводить до прискорення росту, що проявляється у змінах показників крові.» -дещо парадоксальний висновок. Чи є у такому випадку вибір пухлинної моделі коректним?
8. Щодо клітинних моделей: Робота би виграла, якщо у більшій кількості випадків був наведений порняльний аналіз на одних і тих же клітинах *in vitro* та *in vivo*, напр. для меланоми B16/F10 чи L1210.
9. Рис. 59, який опускає визначення АФК при дії мінеральних наночастинок на основі оксиду заліза на продукцію пероксиду водню та супероксид-аніонів у клітинах Т-лейкозу людини лінії Jurkat. Доречним було б використання у цих експериментах скавенджера АФК, напр. N—ацетилцистеїну.
10. У Розділі Аналіз та узагальнення результатів бракує власне аналізу чи рекомендацій, у якому напрямку слід рухатись з метою покращення адресної доставки цитотоксичних ліків.
11. Висновки є занадто розлогими і слід зробити їх більш лаконічними.

Офіційний опонент - Руслана Іскра, доктор біологічних наук, професор, професор кафедри фізіології людини і тварин, Львівський національний університет імені Івана Франка., *надала позитивний відгук із зауваженнями:*

Зауваження щодо дисертації:

1. Як на вашу думку пояснити протекторну дію NSE? Чи володіє NSE антиоксидантними властивостями? Який може бути механізм його дії?
2. Чому полімерні носії (PC) посилювали загально токсичну дію доксорубіцину (0,1 і 0,5 мг/кг) у тварин з лімфомою NK/Ly, зокрема скорочували тривалість життя, хоча нативні полімерні носії не виявляли терапевтичної активності?
3. Який механізм протипухлинної дії берберину?
4. Чому найкращі результати щодо посилення цитотоксичної дії берберину та 9-О-октил-берберину виявила модифікація нанокompозиту із прищепленим фрагментом полі-2-оксазоліну (PC-pEtOx)? Завдяки яким властивостям дія полі-2-оксазоліну (PC-pEtOx) відрізняється від дії гліцидилметакрилату (PC-PEGMA)?
5. Чому на вашу думку цитотоксичність магнітних наночастинок оксиду феруму (Mag.SLPs) щодо доксорубіцин-резистентних клітин лейкозу HL-60/adr знижувалася на 72 год, порівняно з 24 год?
6. Чому у Т-клітинах лінії Jurkat, оброблених магнітними наночастинами оксиду феруму (mag.SLPs) протягом 24 год, IC₅₀ було вищим, порівняно з 72 год?

Ці зауваження не впливають на висновки роботи та не знижують її практичного значення й високої оцінки.

Офіційний опонент - Сергій Шульга, доктор біологічних наук, професор, старший науковий співробітник, завідувач лабораторії промислової та харчової біотехнології відділу геноміки і молекулярної біотехнології, заступник директора з наукової роботи ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України», *надав позитивний відгук із зауваженнями та побажаннями:*

Зауваження та побажання:

1. У роботі згадується поширений компонент транспортних систем (DDS) – поліетиленгліколь (ПЕГ, PEG), який може викликати імунні реакції і непередбачувані побічні ефекти у деяких людей, тому пропонується використовувати інші біосумісні матеріали, зокрема, карбоксиметилхітин, поліоксазолін та актин. Необхідно було чітко роз'яснити механізм дії цих компонентів і чому саме їх обрали. Для довідки: на сьогодні для ліпосомальної форми вакцин активно використовується полі(карбоксиметилхітин).
2. У роботі відзначається, що поверхня запропонованих систем є важливим фактором для оцінки безпеки, але не пояснюється в чому це проявляється і не наведено відповідні характеристики (окрім зарядів). Чи можна говорити, що ці системи є достатньо сумісні з мембранами клітин.
3. Необхідно було чітко показати чим саме обумовлена зміна розмірів (механізм) комплексу наведених в Таблиці 1.
4. На Рис. 3 представлено загальну схему утворення комплексу, але не показано як саме відбувається поетапне утворення комплексу.
5. На Рис. 6 представлено гідродинамічні радіуси міцелярних структур, але не наведено так звані «вагові функції», тобто скільки частинок мають відповідний розмір.
6. Стосовно процесу вивільнення доксирубіцину (DX). Не зовсім зрозуміло яка кількість DX завантажувється в міцеліальну структуру і скільки вивільняється. Для цієї процедури краще підійде застосування вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).
7. У роботі згадуються спекти флюорисценції, але не наведено жодного графіка.
8. В дисертації наводяться скорочення і латиною і кирилицею. Необхідно було зробити скорочення українською мовою і поряд надати англійською мовою. Зустрічаються вислови, які не зовсім відповідають науковому стилю, а саме: «висока специфічність», «висока біодоступність», «унікальне поєднання цитопротекторів», «хороші системи доставки», «хороша відтворюваність» без пояснень що мається на увазі. У випадку надекспресії одних генів може відбуватись інгібування / пригнічення інших генів чи зміна метаболічних шляхів. Чи звертали на це увагу і чи було це досліджено?

Однак, зазначені зауваження не суттєво впливають на загальне позитивне враження від роботи та мають в тому числі дискусійний характер. Загалом дисертаційна робота написана на достатньо високому науковому рівні.

Голова разової ради – Наталія Стасюк, доктор біологічних наук, старший науковий співробітник відділу аналітичної біотехнології, заступник директора з наукової роботи, Інститут біології клітини НАН України. *Оцінка позитивна, без зауважень.*

Присутні:

Ростислав Стойка, доктор біологічних наук, професор, член-кореспондент НАН України, завідувач відділу регуляції проліферації клітин і апоптозу, Інститут біології клітини Національної академії наук України. *Оцінка позитивна, без зауважень.*

Наталія Кашак, кандидат біологічних наук, , Інститут біології клітини Національної академії наук України. *Оцінка позитивна, із зауваженнями.*

У більшості експериментів використано лише одну концентрацію досліджуваних препаратів окремо чи в комплексі з наноносіями, які впливають на активність тих препаратів. Але виникає питання, чи не можна було досягнути такого ефекту просто корекцією дози препарату. У дисертації не було висвітлено проблему кардіотоксичності доксорубіцину та її зміни при використанні NSE та наноносіїв, але в статті, де представлені результати роботи, ця проблема описується і там показані досить незвичні “сурогатні кінцеві точки” - профіль

фосфоліпідів серця. Більш прийнятними характеристиками кардіотоксичності були би зміни рівня тропоніну I, тропоніну T, BNP, фракції викиду лівого шлуночка.

Ростислав Панчук, доктор біологічних наук, старший науковий співробітник відділу регуляції проліферації клітин і апоптозу, Інститут біології клітини Національної академії наук України. *Оцінка позитивна, без зауважень.*

Результати відкритого голосування:

«За» 5 членів ради,

«Проти» 0 членів ради.

На підставі результатів відкритого голосування разова спеціалізована вчена рада присуджує Надії Скорохід ступінь доктора філософії з галузі знань 09 – біологія за спеціальністю 091 – біологія.

Відеозапис трансляції захисту дисертації додається.

Голова разової спеціалізованої вченої ради

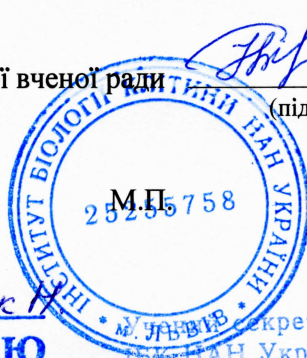
(підпис)

Наталія СТАСЮК

(власне ім'я та прізвище)

Підпис

Стасюк Н.
ЗАСВІДЧУЮ



М.П. 25255758
М. УЛЬВІЙ, секретар
ІВК НАН України, к.б.н.

Барська М.Л.