

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор Інституту біології клітини НАН України
Д.б.н., проф., акад. НАН України

25255758

Андрій СИБІРНИЙ

"12" червня 2025 р.

ВИСНОВОК

про наукову новизну, теоретичне та практичне значення
результатів дисертації Кліща Миколи Васильовича
на тему «Механізми протипухлинного впливу нових гетероциклічних
сполук: моделювання *in silico*, цитотоксична та імуномодулююча дія
in vitro та *in vivo*»,
поданої на здобуття ступеня доктора філософії
з галузі знань 09 – Біологія
за спеціальністю 091 – Біологія,
наукового семінару відділу регуляції проліферації клітини і апоптозу
та відділу сигнальних механізмів клітини
Інституту біології клітини Національної академії наук України
від 29 травня 2025 року

Дисертаційна робота виконана у відділі регуляції проліферації клітин і апоптозу Інституту біології клітини Національної академії наук України,

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

1. Актуальність теми дослідження

Згідно з даними Міжнародного агентства з вивчення раку, у 2022 році у світі було задокументовано близько 20 млн нових випадків онкологічних захворювань, а кількість смертей від різних видів раку досягнула 9,7 млн. Одним із найпоширеніших є колоректальний рак, який у 2022 році посів третє місце за поширеністю у світі (9,6%) та друге місце за смертністю (9,3%). Протягом останніх десятиліть у розвинених країнах відбулося помітне зниження смертності від раку за рахунок ширшого впровадження скринінгу та збільшення доступності лікування. Зокрема, у США протягом 1991–2022 рр. смертність від онкологічних захворювань зменшилась на 34%. Проте на глобальному рівні проблема раку залишається актуальною. Згідно з прогнозами Всесвітньої організації охорони здоров'я, кількість нових

випадків раку може досягти 35 млн у 2050 році, що на 77% більше, ніж у 2022 році. Попри розробку нових терапевтичних підходів, спрямованих на лікування раку, їхня ефективність залишається обмеженою. Зокрема, впровадження надзвичайно дорогих моноклональних антитіл та інгібіторів протеїнкінази забезпечило збільшення середньої тривалості життя онкопацієнтів лише на 2–5% порівняно з традиційною хіміотерапією. Також актуальною залишається проблема селективності дії хіміотерапевтичних препаратів. Саме тому розробка нових підходів, спрямованих на точне націлювання пухлиноспецифічних вразливостей, а також їх поєднання для досягнення синергічного ефекту, є критично важливими напрямками сучасної фармакології та медицини.

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

Дисертаційна робота виконана в рамках наукових досліджень відділу регуляції проліферації клітин і апоптозу Інституту біології клітини НАН України: відомчої 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 тiazолу і 4-тіазолідинону)» (реєстраційний номер 0120U103077, 2020-2024 рр.); НДР «Молекулярний дизайн, синтез і доклінічні випробування нових похідних тiazолу і тіазолідинону 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).

3. Наукова новизна отриманих результатів

У дисертаційній роботі вперше запропоновано і обґрунтовано механізм цитотоксичної дії нового α -N-гетероциклічного похідного тіосемікарбазону COTI-NMe₂, що базується на реактивації мутантних форм білка p53. Запропоновано механізм цитотоксичної та проапоптичної дії нових гетероциклічних сполук - похідних тіопірано[2,3-d]тіазолу, що забезпечується взаємодією із циклін-залежною протеїнкіназою CDK2. Досліджено цитотоксичну дію COTI-NMe₂ на злоякісні клітини різних ліній

карцином миші та людини, передусім карцином колоректального походження, та проведено порівняння властивостей СОТІ-NMe₂ із властивостями раніше описаних α -N-гетероциклічних похідних тіосемікарбазону. Продемонстровано участь СОТІ-NMe₂ у розвитку резистентності до росту трансплантованих пухлин у експериментальних тварин та здатність посилювати фагоцитоз *in vitro*. Таким чином, встановлено здатність низьких доз СОТІ-NMe₂ індукувати імуногенну загибель пухлинних клітин.

4. 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, який зазвичай розвивається через 9–14 місяців після початку терапії. 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. Ми припускаємо, що рішенням може бути використання похідних тіопірано[2,3-d]тіазолу, для яких, згідно з отриманими даними, передбачається здатність до взаємодії із циклін-залежними протеїнкіназами, у поєднанні із новими похідними тіосемікарбазону, що здатні реактивувати мутантний білок p53 та зумовлювати імуногенність загибелі пухлинних клітин. Запропоновано унікальний підхід, який полягає в тому, що потенційна дуальна протипухлинна активність тіосемікарбазонів забезпечує мінімальний ризик розвитку стійкості до цих препаратів *in vivo*. Навіть у разі повторної мутації гена p53, яка може зробити його нечутливим до дії цих сполук, їхня імуногенна складова зберігається. Це базується на подвійній дії сполук і не має безпосередніх аналогів для лікування пухлин, які характеризуються гіперекспресією мутованого гена *TP53* та імунологічною толерантністю. Отримані результати дають 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 нових похідних тіопірано[2,3-d]тіазолу на активність циклін-залежних кіназ, сприятиме вибірковому знищенню злоякісних клітин із зазначеними ознаками.

5. Використання результатів роботи

Результати досліджень можуть бути використані в галузі медичної хімії для розробки нових ефективних протипухлинних агентів на основі похідних

тіазолу та тіосемікарбазону, а також в галузі молекулярної біології для розуміння механізмів, що лежать в основі росту пухлин, ідентифікації потенційних цілей для лікування раку та розробки стратегій щодо подолання резистентності до ліків. Результати досліджень можуть бути використані у навчальних курсах «Методи клітинної біології», «Біохімія тваринної клітини» та «Регуляція проліферації, диференціації та апоптозу клітин».

6. Особиста участь автора в отриманні наукових та практичних результатів, що викладені в дисертаційній роботі

Дисертант Кліщ М. В. самостійно зібрав і опрацював наукову літературу, пов'язану з темою дисертаційної роботи. Разом із науковим керівником, член-кореспондентом НАН України Стойкою Р. С. та д.б.н. Панчуком Р. Р., було розроблено план досліджень і визначено оптимальні методи для їх виконання. Дисертант самостійно провів усі етапи аналізу *in silico*, представлені у дисертації, адаптувавши методику молекулярного докінгу для виконання поставлених завдань, а також самостійно виконав основну частину експериментальної роботи. Кліщ М. В. сформулював ключові висновки, провів аналіз отриманих результатів та підготував їх графічне представлення. Спільно із науковим керівником та співавторами за результатами досліджень було підготовлено до друку наукові публікації. Частина експериментальної роботи була проведена у співпраці із працівниками відділу регуляції проліферації клітин і апоптозу Інституту біології клітини НАН України. Зокрема, частину експериментів із визначення цитотоксичності сполук, а також експериментів *in vivo*, включно з гематологічним аналізом, було проведено у співпраці із провідним інженером Скорохід Н. Р. Частину експериментів із використанням фазово-контрастної мікроскопії проведено у співпраці із провідним інженером Ключівською О. Ю. Експерименти з використанням методів імунофлуоресцентної мікроскопії та Вестерн-блот аналізу було проведено у співпраці з д.б.н. Панчуком Р. Р. Частину експериментів з вивчення антипроліферативних властивостей похідних тіопірано[2,3-d]тіазолу було проведено у співпраці з науковим співробітником, к.б.н. Фінюк Н. С. та молодшим науковим співробітником, к.б.н. Козак Ю. С.

7. Перелік публікацій за темою дисертації із зазначенням особистого внеску здобувача

За темою дисертації опубліковано 8 наукових праць, серед яких 2 статті у вітчизняних та міжнародних фахових періодичних виданнях що входять до WoS або Scopus, а також 6 тез доповідей на вітчизняних та міжнародних конференціях, конгресах та наукових з'їздах.

Список опублікованих праць за темою дисертації

(статті у періодичних наукових виданнях, проіндексованих у базах даних *Web of Science Core Collection* та/або *Scopus* (крім видань держави, визнаної Верховною Радою України державою-агресором))

1. **Klishch, M.**, Skorokhyd, N., Panchuk, R., Stoika, R. (2024). Biochemical and cellular mechanisms of immunogenic cell death. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 96(6), 5–16. <https://doi.org/10.15407/ubj96.06.005>, **Q4, Scopus** (Дисертант виконав основні дослідження *in vitro* та *in vivo*, спільно із науковим керівником та співавторами сформулював концепцію цієї роботи, проаналізував результати та підготував їх до публікації).
2. Kozak, Y., Finiuk, N., Czarnomysy, R., Gornowicz, A., Pinyazhko, R., Lozynskyi, A., Holota, S., Klyuchivska, O., Karkhut, A., Polovkovych, S., **Klishch, M.**, Stoika, R., Lesyk, R., Bielawski, K., & Bielawska, A. (2025). Juglone-Bearing Thiopyrano[2,3-d]thiazoles Induce Apoptosis in Colorectal Adenocarcinoma Cells. *Cells*, 14(6), 465. <https://doi.org/10.3390/cells14060465>, **Q1, WoS, Scopus, IF = 5,1** (Дисертант виконав частину аналізу *in silico*, яка включала молекулярний докінг, та частину експериментів *in vitro*, що стосувалася антипроліферативних властивостей досліджуваних сполук (клоногенний аналіз), проаналізував відповідну частину результатів та підготував їх до публікації).

Тези доповідей в збірниках матеріалів конференцій

1. **Klishch M.**, Skorokhyd N., Panchuk R., Stoika R. Study of capability of traditional and experimental antitumor drugs to induce immunogenic cell death in murine NK/Ly lymphoma [abstract]. 1st International Conference of Young Scientists of the Institute of Cell Biology and the University of Rzeszów “Current Issues in Cell Biology and Biotechnology”. Lviv, Ukraine - Rzeszów, Poland, 2021.
2. **Klishch M.**, Skorokhyd N., Panchuk R., Stoika R. Comparative studies of thiosemicarbazone derivatives as potential inducers of immunogenic cell death in murine carcinomas [abstract]. Conference of Young Scientists of Institute of Cell Biology and University of Rzeszów. Lviv, Ukraine, 2023.
3. **Klishch M.**, Skorokhyd N., Panchuk R., Stoika R. Time and dose-dependent induction of immunogenic cell death in murine melanoma by a novel thiosemicarbazone derivative [abstract]. Conference of Young Scientists of Institute of Cell Biology and University of Rzeszów. Lviv, Ukraine, 2024.
4. **Klishch M.**, Skorokhyd N., Panchuk R., Stoika R. Induction of immunogenic cell death in murine melanoma by a novel thiosemicarbazone derivative [abstract]. In: 7th Congress of the All-Ukrainian Public Organization «Ukrainian Society of Cell Biology» with international representation; 2024, Lviv, Ukraine.
5. Finiuk N., Barska M., Ivasechko I., Manko N., Klyuchivska O., **Klishch M.**, Lootsik M., Lesyk R., Maslyak Z., Stoika R. Response of isolated lymphocytes

of patients with chronic lymphocytic leukemia to pyrrolidinedione-thiazolidinone hybrid Les-6287 compound [abstract]. In: 7th Congress of the All-Ukrainian Public Organization «Ukrainian Society of Cell Biology» with international representation; 2024, Lviv, Ukraine.

6. Klishch M., Panchuk R., Stoika R. A novel thiosemicarbazone derivative as a potential reactivator of mutant p53: *in silico* evaluation [abstract]. VIII Scientific Conference “Latest Advances in Biotechnology”, Kyiv Aviation Institute, Department of Biotechnology, Kyiv, Ukraine, April 25, 2025.

Розглянувши звіт подібності щодо перевірки на плагіат, рецензенти дійшли висновку, що дисертаційна робота **Кліща М. В.** є результатом самостійних досліджень здобувача і не містить елементів плагіату та запозичень. Використані ідеї, результати і тексти інших авторів мають посилання на відповідне джерело. Робота містить теоретичні та методичні положення і висновки, сформульовані дисертантом особисто. Дисертація характеризується єдністю змісту та відповідає вимогам щодо її оформлення.

Структура та обсяг дисертації

Дисертація 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. Дисертацію викладено на 169 сторінках, із них основна частина займає 99 сторінок. Робота містить 23 рисунки, 13 таблиць та 148 джерел літератури.

Оцінка мови та стилю дисертації

Дисертація виконана фаховою українською мовою, текстове подання матеріалу відповідає стилю науково-дослідної літератури. Дисертація за структурою, мовою та стилем викладення відповідає вимогам МОН України.

У результаті попередньої експертизи дисертації **Кліща М. В.** на тему **«Механізми протирадикального впливу нових гетероциклічних сполук: моделювання *in silico*, цитотоксична та імуномодулююча дія *in vitro* та *in vivo*»** і повноти публікацій основних результатів дослідження

УХВАЛЕНО:

1. Констатувати, що дисертаційна робота **Кліща Миколи Васильовича** на тему **«Механізми протирадикального впливу нових гетероциклічних сполук: моделювання *in silico*, цитотоксична та імуномодулююча дія *in vitro* та *in vivo*»**, яка подана на здобуття ступеня доктора філософії, за своїм науковим рівнем та практичною цінністю, ступенем наукової новизни, обґрунтованістю, змістом та оформленням повністю відповідає вимогам **«Порядку підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії»**

та доктора наук у закладах вищої освіти (наукових установах)», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 23 березня 2016 р. № 261, пп. 6, 7, 8 «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, вимогам наказу МОН України №40 від 12.01.2017 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» та відповідає напрямку наукового дослідження освітньо-наукової програми Інституту біології клітини НАН України з галузі знань 09 – Біологія зі спеціальності 091 – Біологія.

2. Рекомендувати дисертацію **Кліща М.В** на тему: **«Механізми протипухлинного впливу нових гетероциклічних сполук: моделювання *in silico*, цитотоксична та імунomodуюча дія *in vitro* та *in vivo*»** до захисту на здобуття ступеня доктора філософії у разовій спеціалізованій вченій раді з галузі знань 09 – Біологія зі спеціальності 091 – Біологія.

3. Рекомендувати Вченій раді Інституту біології клітини НАН України відповідно до п.15 «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 затвердити такий склад разової спеціалізованої вченої ради:

Голова ради:

Гончар Михайло Васильович, доктор біологічних наук, професор, член-кор. НАН України, завідувач відділу аналітичної біотехнології, Інститут біології клітини НАН України.

Рецензенти:

Стасик Олег Володимирович, доктор біологічних наук, старший дослідник, завідувач відділу сигнальних механізмів клітини Інституту біології клітини НАН України;

Стасюк Наталія Євгенівна, доктор біологічних наук, старший науковий співробітник відділу аналітичної біотехнології, заступник директора з наукової роботи Інституту біології клітини НАН України.

Офіційні опоненти:

Шульга Сергій Михайлович, 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 Національної академії наук України»;

Колибо Денис Володимирович, доктор біологічних наук, професор, завідувач лабораторії імунології Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна Національної академії наук України.

За затвердження висновку проголосували:

«за» – шістнадцять осіб,

«проти» – немає,

«утримались» – немає.

Головуючий на засіданні фахового семінару,

доктор біологічних наук, член-кор. НАН України,

провідний науковий співробітник відділу

молекулярної генетики і біотехнології,

заступник директора з наукової роботи

ІБК НАН України

Костянтин ДМИТРУК

Рецензенти:

доктор біологічних наук, старший дослідник,

завідувач відділу сигнальних

механізмів клітини

ІБК НАН України

Олег СТАСИК

доктор біологічних наук,

старший науковий співробітник

відділу аналітичної біотехнології,

заступник директора з наукової роботи

ІБК НАН України

Наталія СТАСЮК

"12" червня 2025 р.

Підписи Демітрука К.,
Стасика О.,
Стасюк Н.

засвідчує

