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

Не зважаючи на досягнення в лікуванні раку, смертність від онкозахворювань залишається високою. Сучасні дорогі препарати — моноклональні антитіла та інгібітори протеїнкіназ — подовжують життя пацієнтів лише на 2–5% порівняно з хіміотерапією. Тому особливо актуальними є нові підходи, що таргетують специфічні вразливості пухлин. Дисертація Кліща Миколи Васильовича «Механізми протипухлинного впливу нових гетероциклічних сполук: моделювання *in silico*, цитотоксична та імуномодулююча дія *in vitro* та *in vivo*» містить результати, що можуть посприяти розробці нових підходів до вирішення зазначених проблем і має суттєве теоретичне й прикладне значення.

2. Наукова новизна отриманих результатів

У цій дисертаційній роботі вперше було запропоновано та обґрунтовано механізм цитотоксичної дії нового α-N-гетероциклічного похідного тіосемікарбазону COTI-NMe2, що полягає у реактивації мутантних форм білка p53. Крім того, автором висунуто механізм цитотоксичного та проапоптичного впливу нових гетероциклічних сполук — похідних юглону та тіазолу — який зумовлюється їхньою взаємодією з циклін-залежною протеїнкіназою CDK2. Досліджено цитотоксичну активність COTI-NMe2 щодо злоякісних клітин різних ліній мишачих та людських карцином, з особливим акцентом на колоректальні форми, а також здійснено порівняння його властивостей з раніше відомими α-N-гетероциклічними тіосемікарбазоновими похідними. Показано, що COTI-NMe2 сприяє пригніченню росту трансплантованих пухлин у лабораторних тварин in vivo, а також здатен підвищувати рівень фагоцитозу in vitro. Відтак, доведено, що низькі дози COTI-NMe2 можуть індукувати імуногенну загибель пухлинних клітин.

3. Теоретичне та практичне значення результатів дисертації

Цільова терапія раку з використанням інгібіторів протеїнкіназ вважається перспективною, однак навіть високоселективні препарати не завжди ефективні проти рецидивів, особливо на пізніх стадіях. Одним із підходів до подолання цієї проблеми є комбінування інгібіторів із засобами, що діють на інші вразливості пухлин. У дисертації Кліща Миколи Васильовича розглянуто поєднання похідних юглону й тіазолу, для яких передбачено здатність впливати на протеїнкіназу CDK2, із тіосемікарбазонами, здатними реактивувати мутантний p53 і запускати імуногенну загибель клітин. Результати дослідження підтверджують, що цілеспрямований вплив на p53, імунну систему та CDK2 може забезпечити вибіркове знищення злоякісних клітин і стати основою нових ефективних підходів до лікування раку.

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

У дисертації Кліща Миколи Васильовича обґрунтовано концепцію дії α-N-гетероциклічних тіосемікарбазонів, які модулюють імунну відповідь та впливають на мутантний білок p53. Усі висновки базуються на комплексних експериментах із застосуванням сучасних методів молекулярної біології, імунології, біоінформатики та in vivo-моделей. Достовірність основних результатів підтверджується багаторівневим аналізом даних, отриманих із застосуванням різноманітних методів біоінформатики, клітинної біології та методів досліджень in vivo. У межах роботи досліджено вплив вивчених сполук на життєздатність пухлинних клітин, рівень експресії ключових білків та маркерів апоптозу, а також продемонстровано їхню здатність індукувати імуногенну загибель клітин. Висновки узгоджуються з цілями дослідження, а рекомендації щодо застосування сполук як потенційних імунотерапевтичних агентів є обґрунтованими. Запропоновані практичні підходи до впровадження результатів у фармакологічні та доклінічні дослідження підкреслюють прикладну цінність роботи. Загалом, положення дисертації свідчать про високий рівень наукової зрілості здобувача.

5. 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: 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 у вітчизняних та міжнародних фахових періодичних виданнях, 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 дослідженням, присвяченим актуальним питанням онкофармакології та імунобіології. У роботі вивчено активність нових α-N-гетероциклічних тіосемікарбазонів, зокрема їхній вплив на p53, імуногенну загибель пухлинних клітин і модулювання імунної відповіді. Робота чітко структурована, включає всі необхідні розділи, основна частина — 99 сторінок, загальний обсяг — 169 сторінок.

Використано 148 джерел, подано 23 рисунки і 13 таблиць, що підтверджує глибину опрацювання теми. Результати мають високу новизну й достовірність, отримані з використанням сучасних методів біоінформатики, клітинної біології та in vivo-моделювання. Автор обґрунтовано показав потенціал досліджених сполук для імунотерапії та таргетного лікування раку. Висновки узгоджуються з метою роботи.Дисертаційна робота була апробована на ряді наукових конференцій і частково опублікована у фахових виданнях, що підтверджує завершеність та наукову зрілість дослідження. Таким чином, дисертація є всебічно опрацьованим дослідженням, що має значну практичну цінність і відповідає встановленим вимогам до наукових робіт на здобуття ступеня доктора філософії.

8. Відомості про дотримання академічної доброчесності

За результатами аналізу дисертаційної роботи та публікацій автора порушення академічної доброчесності не виявлено. Елементи фальсифікації чи фабрикації тексту в роботі відсутні.

9. Питання, зауваження до змісту та оформлення дисертації.

1. Текст дисертації потрібно вичитати на предмет «сленгізмів», деякі з яких мною були виділені.
2. Ще на етапі анотації необхідно пояснити читачеві, яким чином досвід маніпуляцій із відомою пухлиною (імунізація тварин), може бути перенесений у клініку, адже кожна пухлина має унікальний набір мутацій онкодрайверів.
3. Робота загалом є ретельно описаною, Схеми есперименів є вдало проілюстрованими.
4. В експериментах по імунізації мишей використоввали більш метастатичну сублінію меланоми B16F10, а не вихідну B16, - якою була мотивація такого вибору?
5. Висновки. Результати молекулярного докінгу не є доказом взаємодії сполуки із потенційною мішенню, а лише припущенням про імовірність такої взаємодії. Для тверджень потрібні дані по ензиматичній активності кіназ.
6. Розділ Узагальнення та аналіз результатів рекомендується розширити та поспекулювати про перспектими розробки онкотерапій на основі ІЗК.

10. Загальний висновок

Вважаю, що дисертаційна робота **Кліща Миколи Васильовича «Механізми протипухлинного впливу нових гетероциклічних сполук: моделювання in silico, цитотоксична та імуномодулююча дія *in vitro* та *in vivo*»,** відповідає наказу МОН України №40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження вимог до оформлення дисертації», «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 р. та відповідає напрямку наукового дослідження освітньо-наукової програми Інституту біології клітини НАН України з галузі знань 09 – Біологія зі спеціальності 091 – Біологія.

Здобувач заслуговує на присудження ступеня доктора філософії зі спеціальності 091 – Біологія.

Рецензент
завідувач відділу Сигнальних механізмів клітини
Інституту біології клітини НАН України, д.б.н., ст. д. Олег СТАСИК