

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу аспірантки **Скорохід Надії Романівни**
на тему «**Біологічна ефективність багатофункціональних наноматеріалів для адресної доставки традиційних та експериментальних протипухлинних препаратів**», подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю **091 – Біологія**, галузь знань **09 – Біологія**

Представлена дисертаційна робота є цілісним, сучасним науковим дослідженням. Метою даної роботи було дослідження молекулярних механізмів дії нових систем доставки лікарських засобів з іммобілізованими традиційними та експериментальними протипухлинними препаратами та вивчення їх терапевтичної ефективності *in vitro* та *in vivo* на експериментальних моделях пухлин у піддослідних тварин; а також вивчення біосумісності досліджуваних наноматеріалів різної природи як потенційних носіїв для адресної доставки лікарських засобів.

1. Актуальність теми дослідження

Попри величезний технологічний прогрес, досягнутий в останні десятиліття, сучасна хіміотерапія раку досі виявляє ряд недоліків, а саме: i) значні побічні ефекти традиційних лікарських засобів, таких як доксорубіцин, цисплатин, паклітаксел; ii) короткотривалі ефекти від застосування новітніх таргетних протипухлинних препаратів, що зумовлені швидким розвитком набутої стійкості злоякісних клітин до хіміотерапії. Одним із найперспективніших напрямків для усунення вищезгаданих недоліків є застосування нанорозмірних систем для цілеспрямованої доставки ліків у злоякісні клітини. Такий підхід дозволяє оптимізувати ефективність дії ліків і мінімізувати їхні побічні ефекти на здорові тканини і органи. Саме тому, розробка та подальше впровадження у клінічну практику новітніх систем доставки ліків, здатних посилювати протипухлинну дію, долати набуту стійкість пухлин до хіміотерапії та водночас зменшували негативні побічні ефекти цих ліків на нормальні клітини організму, залишається актуальним завданням сучасної фармакології та медицини.

2. Наукова новизна отриманих результатів

У роботі встановлено, що кожен з проаналізованих типів наноматеріалів володіє такими важливими характеристиками, як біосумісність, здатність до високого навантаження медикаментозними чинниками та стабільність у водних розчинах протягом тривалого часу (до 30 днів), що робить їх перспективними кандидатами для застосування у клінічній практиці. Дані наносистеми були розроблені в рамках співпраці відділу регуляції проліферації клітин і апоптозу Інституту біології клітини НАН України, де виконувалася дисертаційна робота, з іноземними та вітчизняними партнерами, а саме з групою проф. О.С. Заїченка (Національний університет «Львівська політехніка») та групою проф. Данієля Горака, Інститут макромолекулярної хімії Чеської АН.

Вперше оцінено ефективність дії нових полімерних носіїв за їхньою здатністю знижувати лікувальну дозу традиційних протипухлинних препаратів (доксорубіцин) та підвищувати біодоступність експериментальних лікарських засобів (берберину, похідне 9-О-октилберберину) у піддослідних лабораторних тварин (мишей). Встановлено, що застосування нанорозмірних полімерних носіїв для доставки доксорубіцину посилює його протипухлинну дію та зменшує негативні побічні ефекти в організмі. Досліджено молекулярні механізми, що визначають здатність нанокомпозитів на основі N-вінілпіролідону, функціоналізованих цитопротекторним ліпідом N-стеароїлетаноламіном, посилювати цілеспрямовану дію протипухлинного препарату доксорубіцину *in vitro* та *in vivo*. Виявлено унікальну біфункціональність синтетичного канабіміметика NSE, який демонструє проапоптотичну дію на пухлинні клітини *in vitro* та пригнічує ріст пухлин *in vivo*. Водночас, у комплексі з полімерним носієм, NSE проявляє біопротекторний ефект щодо токсичної дії доксорубіцину в організмі мишей, зокрема зменшує його кардіотоксичність у мишей.

Застосування наноконплексів значно покращує розчинність водонерозчинних протипухлинних препаратів, підвищує їхню біодоступність і пролонгує терапевтичний ефект. Це особливо актуально для напівсинтетичних похідних алкалоїдів, зокрема у лікуванні меланоми B16/F10 у мишей.

Результати дослідження біосумісності різних наноматеріалів, зокрема полімерних носіїв різної хімічної будови та молекулярної маси, вказують на їхню біобезпеку *in vitro*, так і на рівні організму.

Також розроблені магнітні SLP частинки на основі оксиду заліза продемонстрували багатообіцяючі характеристики, що робить їх перспективними для застосування у протипухлинній терапії, зокрема в контексті подолання множинної резистентності пухлин до лікування.

3. Теоретичне та практичне значення результатів дисертації

Практичне значення дослідження полягає у розробці перспективних наноконпозитних лікарських форм, які можуть бути використані у клінічній онкології. Запропоновані підходи дозволяють зменшити токсичні побічні ефекти хіміотерапії (кардіотоксичність, гепатотоксичність), підвищити ефективність протипухлинних засобів та покращити результати лікування. Оцінка безпеки розроблених полімерних наноматеріалів підтвердила їхню високу біосумісність, що є важливим критерієм для подальшого впровадження у медичну практику.

Створене у роботі унікальне поєднання цитопротектора та протипухлинного препарату на одній платформі доставки медикаментозного препарату дає змогу вирішити дві принципові проблеми хіміотерапії раку, а саме: 1) зниження ефективної дози хіміотерапевтичного агенту без втрати його терапевтичної дії; 2) захист нормальних клітин організму від токсичного впливу хемотерапевтичного агента, наприклад доксорубіцину.

Нові синтетичні похідні берберину є перспективними протипухлинними препаратами, а використання їхніх нанорозмірних конплексів на носіях різної природи покращує розчинність у водних розчинах, підвищує біодоступність і сприяє зменшенню негативних побічних ефектів на організм. Запропоновану стратегію також можна використати для покращення водорозчинності інших напівсинтетичних природних сполук, розчинних лише в органічних розчинниках і тому незручних для доклінічних досліджень, що сприятиме підвищенню їхнього терапевтичного потенціалу.

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

Особливу увагу у роботі було приділено новим хіміотерапевтичним підходам для пригнічення росту пухлин із використанням традиційних та експериментальних протипухлинних засобів. Продемонстровано модулювання активності цих препаратів у складі нанорозмірних конплексів, що дозволяє долати набуту стійкість злоякісних клітин до хіміотерапії та зменшувати їхній токсичний вплив на клітини нормальних тканин. Проведена оцінка біосумісності досліджуваних наноматеріалів різної природи підтверджує їхній потенціал як ефективних носіїв для адресної доставки медикаментозних засобів.

В ході досліджень було випробовано кілька багатофункціональних наноматеріалів для покращення ефективності лікування злоякісних новоутворень: 1) застосовано ко-імобілізовано доксорубіцину - «золотого стандарту» хіміотерапії на полімерних наноносію полі(БЕП-ко-ГМА)-графт-мПЕГ з функціоналізацією канабіметика N-стеароїлетаноламіну.

2) для посилення водорозчинності та у підсумку біосумісності і терапевтичної дії ізохінонових алкалоїдів застосовано їх імобілізацію на трьох різних гребенеподібних амфіфільних полімерних носіях із різними модифікаціями будови.

3) досліджено протипухлинну активність нових наночастинок на основі оксиду феруму(III), функціоналізованих олеїновою кислотою і полі(етиленоксид)-блок-полі(ε-капролактоном) як потенційних систем для доставки лікарських засобів.

Наукові положення, висновки і рекомендації, сформульовані у дисертації, є добре аргументованими та підтвердженими експериментальними даними.

5. Зміст та обсяг роботи. Дисертація включає «Анотацію», «Вступ», «Огляд літератури», «Матеріали і методи досліджень», «Результати досліджень та їх обговорення», «Аналіз та узагальнення результатів досліджень», «Висновки», «Список використаних джерел», «Додатки». Текст дисертації викладено на 241 сторінці машинопису, з яких основна частина складає 201 сторінки. Робота містить 9 таблиць і 62 рисунки. Список літератури нараховує 197 найменувань.

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

Представлена робота виконана як частина фундаментальних досліджень відділу регуляції проліферації клітин і апоптозу Інституту біології клітини НАН України за темами: «Роль імунomodulatory активності у протипухлинній дії традиційних та експериментальних медикаментозних препаратів за їх доставки полімерними наноносіями до різних клітин-мішеней *in vitro* та *in vivo*» (відомча тема, № держреєстрації: 0122U002240, 2022-2024 рр.), «Посилення біологічної активності берберин-подібних алкалоїдів шляхом їх ковалентної і нековалентної модифікації» (НДР за бюджетною програмою «Підтримка розвитку пріоритетних напрямів наукових досліджень», № держреєстрації: 0122U002241, 2022 р.), «Підвищення ефективності дії традиційних та експериментальних лікарських препаратів *in vitro* та *in vivo* шляхом їх іммобілізації на нанорозмірних носіях і поєднання з антиоксидантами» (відомча тема, № держреєстрації 0117U000786, 2017-2021 рр.).

7. Повнота викладення основних результатів роботи в наукових публікаціях

Публікації. За темою дисертації опубліковано 2 наукові роботи у фахових міжнародних журналах із сумарним імпакт-фактором 9,2 (згідно даних Thomson Reuters за 2025 рік), 1 розділ у монографії, 5 тез доповідей на наукових конференціях. Таким чином, повнота викладення матеріалу не викликає сумніву.

8. Оцінка змісту дисертації та її завершеності

Представлена дисертаційна робота є повноцінною і завершеною науковою працею. Її метою було: 1) дослідження молекулярних механізмів дії *in vitro* новітніх систем доставки ліків з іммобілізованими на них традиційними та експериментальними протипухлинними препаратами та вивчення їх терапевтичної ефективності *in vivo* на експериментальних моделях пухлин піддослідних тварин; 2) вивчення біосумісності досліджуваних наноматеріалів різної природи як потенційних носіїв для адресної доставки лікарських засобів.

Відповідно до визначеної мети були поставлені наступні та виконані експериментальні завдання:

1. Дослідити механізми протипухлинної дії нанокомпозиту, що складається з антиоксиданта N-стеароїлетаноламіну (NSE) і доксорубіцину, іммобілізованих на синтетичному полімерному наноносії (poly(VEP-GMA)-graft-PEG).
2. Оцінити дозозалежне посилення терапевтичної активності доксорубіцину по відношенню до пухлин різного типу за допомогою ко-іммобілізованого N-стеароїлетаноламіну, та вивчити ефект функціоналізації полімерної платформи для зменшення токсичного впливу на організм.
3. Дослідити протипухлинну дію берберину та його нанорозмірних комплексів, їхню цитотоксичну активність щодо нормальних та злоякісних клітин ссавців, а також ефективність терапії мишей з меланою B16/F10 дикого типу.
4. Оцінити протипухлинний потенціал 9-0-берберину та його нанорозмірних комплексів, молекулярні механізми їх дії та терапевтичний ефект на організм мишей з експериментальними пухлинами.
5. Оцінити біосумісність наноматеріалів, зокрема нових полімерів різної структури та молекулярної маси для потенційного застосування в якості нанорозмірних носіїв для доставки ліків.

6. Дослідити протипухлинну активність нових наночастинок на основі оксиду заліза (III), функціоналізованих олеїною кислотою і полі(етиленоксид)-блок-полі(ε-капролактоном) як потенційних систем для доставки лікарських засобів.

У роботі були **використані методи** клітинної біології і цитології (культивування клітин, проточна цитофлуориметрія, світлова і флуоресцентна мікроскопія). Крім того, застосовували електрофорез в поліакриламідному гелі і Вестерн-блот аналіз клітинних білків, перещеплення пухлинних клітин тваринам *in vivo*, визначення показників гематологічного та біохімічного профілю (визначення активності ензимів і концентрації метаболітів) у піддослідних тварин і статистичне опрацювання результатів дослідження.

9. Особистий внесок здобувача

Скорохід Н.Р. самостійно підготувала та опрацювала наукову літературу за темою дисертації. Спільно із науковим керівником, член-кореспондентом НАН України Стойкою Р.С. було розроблено план проведення досліджень і підібрано оптимальні методи виконання поставлених завдань. Основну частину експериментальної роботи дисертантка виконала самостійно.

10. Відомості про дотримання академічної доброчесності

У поданій дисертації не виявлено порушення академічної доброчесності, ознак академічного плагіату чи інших порушень, які могли би поставити під сумнів самостійний характер виконання дисертанткою представленої наукової роботи. Дисертаційна робота є результатом самостійних досліджень здобувача і не містить елементів фальсифікації, компіляції, фабрикації, плагіату та запозичень. Використані ідеї, результати і тексти інших авторів мають належні посилання та відповідне джерело.

11. Питання, зауваження до змісту та оформлення дисертації

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 є ряд рисунків без вказання джерела!
3. У Розділі Методи досліджень зустрічаються сленгові вирази, - потрібно виправити.
4. Окремі розділи роботи повинні починатись із нової сторінки, - виправити.
5. Бажано рисунки звести до одного стилю, - або в кольорі, 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 порівняльний аналіз на одних і тих же клітинах *in vitro* та *in vivo*, напр. для меланоми B16/F10 чи L1210.
9. Рис. 59 , який описує 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 як контролю 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.

12. Загальний висновок

Вважаю, що дисертаційна робота **Скорохід Надії Романівни** на тему «**Біологічна ефективність багатофункціональних наноматеріалів для адресної доставки традиційних та експериментальних протипухлинних препаратів**» відповідає «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, 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.

Рецензент

Завідувач відділу сигнальних механізмів клітини

Інституту біології клітини НАН України

д.б.н., ст.дослідник

Олег СТАСИК

11 червня 2025р.