

## ВІДГУК

**офіційного опонента, доктора біологічних наук, головного наукового співробітника Осташа Богдана Омеляновича на дисертаційну роботу  
Манька Назара Олеговича**

на тему: „Вплив біологічно активних речовин у комплексах з фрагментами хітозану і похідними полівінілпіролідону на життєздатність прокаріотичних та евкаріотичних клітин”, представленої на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – Біологія.

**Актуальність дисертації.** Ракові та інфекційні захворювання є наразі серед основних причин смертності, що пов’язана з хворобами. Відтак, важко переоцінити важливість пошуку нових антибіотичних і протиракових речовин, способів ефективної доставки таких препаратів у організм пацієнта чи пролонгації їхньої дії. У цьому ключі, тестування різноманітних полімерних та нанорозмірних носіїв на різних біологічних системах, і в поєднанні з різними біоактивними сполуками, є тенденцією сучасності, що вже привела до низки інноваційних рішень в галузі фармацевтики. В своїй роботі Назар Манько зупинився на двох полімерах – одному природному, хітозані, й одному штучному, полівінілпіролідоні (ПВП). В роботі досліджено нові способи отримання хітозану, біологічні властивості самих полімерів і їхніх комплексів з іншими речовинами, а також виконано низку експериментів спрямованих на ідентифікацію мішеней дії деяких полімерних препаратів. Тема і зміст дисертаційної роботи є актуальними, оскільки можуть привести до нових відповідей на пекучі проблеми охорони здоров’я, зокрема в Україні. Водночас, дослідження Манька Н.О. є оригінальним внеском є розуміння біологічних механізмів дії досліджуваних полімерів, що є дуже популярними у сучасних біомедичних дослідженнях.

**Зв’язок з державними чи галузевими науковими програмами.** Робота дисертанта є частиною фундаментальних досліджень відділу регуляції проліферації клітин і апоптозу Інституту біології клітини НАН України за темою “Підвищення ефективності дії лікарських препаратів *in vitro* та *in vivo* шляхом їх іммобілізації нанорозмірними носіями та поєднання з антиоксидантами” (№ держреєстрації 0117U00786, 2017-2021 pp). Робота підтримана грантом компанії Volkswagen “Щодо розуміння сигнальних мереж, залучених у загибел клітин за дії лактаптину” (2016-2019 pp). Автор дисертаційної роботи є одним із виконавців вищезгаданих науково-дослідних тем.

**Наукова новизна дослідження.** Маньком Н.О. опрацьовано оригінальні методи отримання хітозану з нових природних джерел (весняний підмор бджіл, гриби-базидіоміцети) та ідентифікації білків-мішеней дії похідних ПВП на евкаріотичні клітини. Вперше виконано порівняльний аналіз біологічних властивостей хітозану різного походження і продемонстровано, що його протигрибкова активність позитивно корелює з розміром полімеру.

Продемонстровано можливість використання хітозану як носія медикаментів, що забезпечує пролонгацію перебування останніх у крові. Продемонстровано можливість використання ПВП як носія пептидів, що виявляють протиракову дію. Виконано комплекс досліджень, що вперше дають змогу зрозуміти механізм дії таких похідних ПВП.

**Практичне значення отриманих результатів.** Здобувачем опрацьовано нові методи отримання практично важливого полімеру, хітозану, які можуть спростити доступ до останнього. Отримано похідні хітозану з протинрибовою активністю та похідні ПВП з протираковою. Висвітлення механізму дії похідних ПВП інформуватиме наступні спроби створення препаратів з протираковою активністю.

**Ступінь обґрунтованості та достовірність висновків та результатів.** Дисертація є цілісним дослідженням, її мета і завдання сформульовані чітко і змістовно. Манько Н.О. застосував у своїй роботі сучасні і доречні методи клітинної біології, хімії, молекулярної біології, мікробіології та аналітичної біохімії. Результати опрацьовано статистично та обговорено з урахуванням сучасної наукової літератури, і сповна презентовано на низці національних та міжнародних конференцій. Виклад матеріалу відповідає поставленій меті та завданням дисертаційної роботи. Висновки роботи логічно випливають з отриманих результатів. Тому достовірність положень та висновків дисертації безсумнівні.

**Повнота викладу основних положень дисертації в опублікованих працях.** Матеріали дисертації сповна відображені у публікаціях. Зокрема, за темою дисертації опубліковано 4 статті, всі входять до наукометричної бази Scopus і всі мають імпакт-фактор. Здобувач презентував свою роботу на багатьох міжнародних та вітчизняних наукових конференціях, з'їздах і симпозіумах.

**Оцінка змісту дисертаційної роботи та її завершеності.** Дисертаційна робота складається зі вступу, чотирьох розділів, списку використаних джерел, що налічує 239 статей, головно англомовні. Роботу викладено на 158 сторінках друкованого тексту, що містить 43 рисунків і сім таблиць. У вступі обґрунтовано актуальність обраної теми досліджень, її зв'язок з напрямом наукових досліджень установи, де виконано роботу, новизну і практичне значення, описано обсяг і структуру дисертації. У першому розділі описано хімічні та біологічні властивості хітозану та ПВП, відомі способи медичного застосування цих полімерів, а також способи їхнього отримання. Останній підрозділ огляду літератури дає загальне уявлення про пептидоміметики та способи їхньої уведення в організм. У другому розділі викладено матеріали і методи досліджень. У третьому розділі описано результати досліджень. Спочатку іде опис розроблених методик отримання хітозану з крабів, підмору та грибів. Далі здобувач дослідив біологічні властивості хітозану та хітозан-меланінового комплексу проти низки евкаріотичних (зокрема дріжджі *Candida albicans*, лінію псевдо нормальних клітин нирок НЕК293) та прокаріотичних (*E. coli*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*) моделей. Маньком Н.О. також досліджено можливість використання хітозану як пролонгатора дії медпрепаратів, для чого

скористався репортерною сполукою етакридином. Далі здобувач дослідив біологічну активність низки похідних ПВП проти евкаріотичних клітин та на лабораторних мишах з перевитими пухлинами. Отримані позитивні результати і низька цитотоксичність препаратів спонукали дисертанта дослідити ПВП як носій трипептиду Ser-Pro-Cys для потреб хіміотерапії. Отримано перші дані про біологічну активність відповідних аддуктів та кон'югатів, а також відомості про можливі шляхи проникнення полімеру в клітину, його білків-партнерів. В четвертому розділі автор обговорює отримані результати в ширшому контексті наявних наукових даних.

### **Зауваження щодо дисертації:**

1. Перші два підрозділи результатів перевантажені описом методики, часто надмірно деталізованої, а подекуди вкрай поверхово згаданої. Такий опис загалом має зміст, бо робота полягала у розробці методики. Втім, з опису незрозуміло, в чому полягав внесок автора, власне оригінальність методу (про що неодноразово наголошує дисертант). Бракує бодай стислого опису суті відомих підходів (чи посилання на такий опис в огляді літератури), і далі, одним реченням – в чому полягають новації автора.
2. Табл. 3.3, автор робить висновок, що хітин і хітозан різного походження мають різну довжину ланцюга, що може бути видоспецифічним фактором. Однак наскільки автор впевнений у цьому? Зразки, що використано здобувачем для порівняння імовірно виділяли іншими методами, і можливо виявлені відмінності є лише наслідком експериментальних умов.
3. Рис. 3.9 і далі – для кращого розуміння результатів концентрації полімерів варто було б подати в молярних одиницях – тоді можна прямо порівнювати активність полімерів різного розміру.
4. Рис. 3.18 та інші – це графіки виживання, де вісь ординат наведена у відсотках. На таких графіках неможливо відрізнити падіння виживання більше за 1 %, тобто і 1% і 0,001% виглядатимуть однаково. Графіки виживання для антибіотичних речовин зручніше подавати як логарифм відсотка виживання.
5. Для багатьох тестованих речовин кількості, при яких спостерігали антибіотичну активність (IC<sub>50</sub>), дорівнювали сотні мкг на мл (див. напр. рис. 3.19). Чи можна вважати такі концентрації перспективними для розробки антибіотика, на думку автора?
6. В роботі багато опечаток, неузгоджень відмінків, і невдалих кальок з англійської, за наявності усталеного перекладу. Напр., стор. 30, автор пише про “котонові” волокна, маючи на увазі, мабуть, бавовну.

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

**Загальний висновок.** Дисертаційна робота Манька Назара „Вплив біологічно активних речовин у комплексах з фрагментами хітозану і похідними полівінілпіролідону на життєздатність прокаріотичних та евкаріотичних клітин“ – завершена наукова праця, в якій вперше опрацьовано методи

очищення хітозану з нових джерел; отримано дані про біологічні активності хітозану та ПВП і їхніх комплексів з іншими речовинами; висвітлено біологічні механізми дії кон'югатів ПВП. За структурою та змістом, актуальністю, новизною, практичним значенням, ступенем достовірності та обґрутованості результатів та повнотою їхнього викладення у публікаціях, вищезазначена дисертація повністю відповідає вимогам pp. 9, 10, 11 і 12 „Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії”, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 6 березня 2019 №167, а її автор, Манько Назар Олегович, заслуговує присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія.

**Офіційний опонент:**

Доктор біологічних наук,  
гол. н.с. кафедри генетики та біотехнології  
Львівського національного університету  
імені Івана Франка

Б.О. Осташ

20 квітня 2021 р.

Підпис Б.О. Осташа засвідчує:  
вчений секретар ЛНУ імені І. Франка, доц.

О.С. Грабовецька

