

РІШЕННЯ

разової спеціалізованої вченої ради про

присудження ступеня доктора філософії

Здобувач ступеня доктора філософії Жувака Катерина Сергіївна, 1993 року народження, громадянка України, освіта вища, у 2018 році закінчила Київський Національний Університет імені Тараса Шевченка, отримавши ступінь магістра за спеціальністю «біологія». Молодший науковий співробітник відділу генетики людини Інституту молекулярної біології і генетики НАН України. Виконала освітньо-наукову програму «Біологія» за освітнім рівнем «доктор філософії».

Разова спеціалізована вчена рада утворена наказом № 27 від 30.10.2024 р Інституту молекулярної біології і генетики Національної академії наук України, м. Київ складі:

**Голова разової
спеціалізованої
вченої ради**

Філоненко Валерій Вікторович, доктор біологічних наук, професор, академік НАН України, завідувач відділу сигнальних систем клітини Інституту молекулярної біології і генетики НАН України.

Рецензенти:

Телегєєв Геннадій Дмитрович, доктор біологічних наук, професор, завідувач відділу молекулярної генетики Інституту молекулярної біології і генетики НАН України;

Дубей Ігор Ярославович, доктор хімічних наук, старший науковий співробітник, завідувач відділу синтетичних біорегуляторів Інституту молекулярної біології і генетики НАН України.

Опоненти:

Кашуба Олена Віталіївна, доктор біологічних наук, професор, завідувачка лабораторії молекулярних механізмів трансформації клітин Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України;

Сиволоб Андрій Володимирович, доктор біологічних наук, професор, професор ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка

на засіданні 18 грудня 2024 року прийняла рішення про присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 09 Біологія **Жуваці Катерині Сергіївни** підставі публічного захисту дисертації «Дослідження нових ненуклеозидних інгібіторів MGMT при алкілувальній хіміотерапії пухлинних клітин в модельних системах» за спеціальністю 091 Біологія.

Дисертацію виконано на базі відділу генетики людини Інституту молекулярної біології і генетики НАН України у період з 2019 по 2024 рр., а також частину роботи виконано під час стажування в Інституті експериментальної біології ім. Ненського в м. Варшава в період з 19 вересня 2022 по 30 листопада 2022 року.

Науковий керівник – Лукаш Любов Леонідівна, доктор біологічних наук, професор, заступник директора з наукової роботи, завідувач відділу генетики людини Інституту молекулярної біології і генетики НАН України.

Дисертацію подано у вигляді спеціально підготовленого рукопису українською мовою, що відповідає вимогам пункту 6 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 (зі змінами).

Дисертація Катерини Жуваки є самостійною та ґрунтовною науковою працею, що виконана з дотриманням вимог академічної доброчесності, отримані результати якої мають важливе теоретичне та практичне значення для галузі знань Біологія. Дисертаційна робота Катерини Жуваки присвячена пошуку та дослідженню нових інгібіторів білка MGMT. Вперше детально досліджено інгібувальні властивості та показано ефективну дію нових ненуклеозидних інгібіторів MGMT у комбінації з алкілувальною сполукою MNNG у різних модельних системах *in vitro* та *in vivo*. Вперше виявлено синергічний ефект зниження кількості білка MGMT при спільній дії нових інгібіторів і MNNG у широкому діапазоні концентрацій в пухлинних клітинах людини HEp-2, що відрізняє їх від ефекту стандартного інгібітора O⁶-бензилгуаніну у комбінації з алкілувальною сполукою. Вперше встановлено тривалість дії (протягом доби) нових ненуклеозидних інгібіторів у концентрації 10 мкМ на клітинах лінії T98G. Вперше показано, що комбінована терапія з використанням нових ненуклеозидних інгібіторів призводить до посилення аутофагії та підвищення летальності пухлинних клітин лінії T98G, що характеризуються високим рівнем білка MGMT. Також вперше виявлено терапевтичний ефект нових ненуклеозидних інгібіторів MGMT у модельній системі *in vivo* на мишах лінії ICR, де зафіксовано стійку регресію пухлин молочної залози та зниження рівня білка MGMT під дією

комбінованої хіміотерапії. Крім того, вперше у зразках пухлинних тканин відзначено ознаки апоптичного механізму регресії пухлин під час комбінованої терапії із застосуванням нових інгібіторів MGMT.

За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 3 статті, усі у вітчизняних наукових виданнях, представлених у міжнародних наукометричних базах Scopus та Web of Science (Q4), а також 5 тез доповідей у наукових збірниках конференцій.

Статті у періодичних наукових виданнях:

1. **Zhuvaka, K. S.**, Volynets, G. P., Ruban, T. P., Nidoeva, Z. M., Iatsyshyna, A. P., Macewicz, L. L., Bdzhola, V. G., Yarmoluk, S. M., & Lukash, L. L. (2023). Activity of nonnucleoside inhibitors of O6-methylguanine-DNA methyltransferase repair enzyme in human cells in vitro. *Cytology and Genetics*, 57(6), 48-59. <https://doi.org/10.3103/S0095452723060105>
2. **Zhuvaka, K. S.**, Piven, O. O., Macewicz, L. L., Ruban, T. P., Volynets, G. P., Yarmoluk, S. M., Dobrzyn, P., Lukash, L. L. (2024). Novel MGMT inhibitors increase the sensitivity of glioma MGMT-positive cells to treatment with alkylating agents in vitro. *Biopolymers and Cell*, 40(1), 47-57. <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000AAD>
3. Macewicz, L. L., **Zhuvaka, K. S.**, Papuga, O. Y., Ruban, T. P., Volynets, G. P., Bdzhola, V. G., Yarmoluk, S. M., & Lukash, L. L. (2024). Non-nucleoside O6-methylguanine-DNA methyltransferase inhibitors in murine spontaneous tumor experimental chemotherapy in vivo. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 15(3), 561-566. <https://doi.org/10.15421/022478>

Публікації тез наукових доповідей на конференціях:

1. **K. S. Zhuvaka**, A. P. Iatsyshyna, Z. M. Nidoeva, G. P. Volynets, T. P. Ruban, L. L. Macewicz, S. M. Yarmoluk, L. L. Lukash. Investigation of effectiveness of MGMT potential inhibitors in human cell culture. XV IMBG all-Ukrainian Conference of Young Scientists with international participation. *Biopolym. Cell*. 2021; 37(3):185-244. <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000A56>
2. **K. S. Zhuvaka**, L. L. Macewicz, O. O. Piven, G. P. Volynets, T. P. Ruban, S. M. Yarmoluk, L. L. Lukash. Impact of new MGMT inhibitors on autophagy in glioma cells in vitro at combined action with alkylating agent N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. Conference of young scientists of the Institute of Molecular Biology and Genetics — 2023. The conference is dedicated to young scientists who defend Ukraine and those who gave their lives for our Motherland. *Biopolym. Cell*. 2023; 39(1):60-73. <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000A89>

3. **K. S. Zhuvaka**, O. O. Piven, L. L. Macewicz, G. P. Volynets, T. P. Ruban, S. M. Yarmoluk, L. L. Lukash. Comparison of new non-nucleoside MGMT inhibitors' effectiveness in HEP-2 and T98G cancer cells. The Conference of Young Scientists within the framework of XVIII International Conference «Factors in Experimental Evolution of Organisms», dedicated to the 50th anniversary of the foundation of the Institute of Molecular Biology and Genetics of the NASU. Biopolym. Cell. 2023; 39(4):311-322. <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000AA8>

4. **K. S. Zhuvaka**, L. L. Macewicz, T. P. Ruban, G. P. Volynets, S. M. Yarmoluk, L. L. Lukash. The therapeutic effect of new non-nucleoside MGMT inhibitors during combined alkylating chemotherapy in vivo. The materials of the XVIII Ukrainian Conference of Young Scientists of IMBG of NAS of Ukraine. Biopolym. Cell. 2024; 40(2):153-168. <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000AB8>

5. **K. S. Zhuvaka**, L. L. Macewicz, O. O. Piven, G. P. Volynets, T. P. Ruban, S. M. Yarmoluk, L. L. Lukash. Novel non-nucleoside MGMT inhibitors: potential in combined alkylating chemotherapy. BioGENext Conference: Shaping the future of medicine through biomedical research and development. Biopolym. Cell. 2024; 40(3):242. <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000ADC>

У дискусії взяли участь голова і члени разової спеціалізованої ради:

Філоненко Валерій Вікторович, доктор біологічних наук, професор, академік НАН України, завідувач відділу сигнальних систем клітини Інституту молекулярної біології і генетики НАН України. Оцінка позитивна без зауважень.

Телегєєв Генадій Дмитрович, доктор біологічних наук, професор, завідувач відділу молекулярної генетики ІМБГ НАН України. Оцінка позитивна із запитаннями.

1. У літогляді Ви навели історію розвитку терапії з використанням алкілюючих агентів. А які тенденції їх використання існують зараз, які розроблюють нові препарати?

2. Ви показали, що перевірені інгібітори трохи по різному діють на різні культури. Чим це пояснити? Чи передбачає це, що їх використання має бути залежним від типу пухлин?

3. В остаточному варіанті Ви підібрали 3 інгібітора MGMT-(41,41B,89). З яким із них надалі було б перспективно працювати?

4. На скільки знизився рівень MGMT після обробки інгібіторами?

Дубей Ігор Ярославович, доктор хімічних наук, старший науковий співробітник, завідувач відділу синтетичних біорегуляторів ІМБГ НАН України. Надав позитивну рецензію із зауваженнями та запитаннями.

1. Недостатньо пояснено, чому досліджували саме нуклеозидні інгібітори, в чому їх переваги й недоліки порівняно з нуклеозидними. В літературному огляді взагалі не наводиться така класифікація (нуклеозидні/нуклеозидні), а інгібітори останнього типу та їхні механізми дії окремо не розглядаються (за винятком ДНК-спрямованого порфірину DIGPor, який не названо нуклеозидним, с. 49).

2. Структури досліджених інгібіторів ми вперше бачимо аж у самому кінці дисертації, в заключному розділі 5 «Аналіз і узагальнення отриманих результатів» (с. 111-112). Це нелогічно, і доречніше було би навести їх на початку обговорення результатів чи в експериментальній частині.

3. Дисертація стосується інгібіторів фермента, проте в ній не наведені дані про власне інгібувальну активність сполук щодо цього фермента, у т.ч. значення IC50, отримані в ферментативній тест-системі. В роботі ж інгібувальну дію сполук оцінювали лише на клітинному рівні.

4. Для первинного відбору інгібіторів з колекції сполук використовували методи *in vitro* (зокрема, флуоресцентний MGMT-тест у безклітинній системі), які коротко описані в кінці дисертації (розділ 5, с. 109-111). Логічніше було би представити процес відбору на самому початку обговорення результатів (розділ 3), перемістивши відповідний фрагмент з розділу 5 у підрозділ 3.1 «Первинний відбір інгібіторів». Корисно було б і навести схему MGMT-тесту.

5. Цікаво, який можливий спосіб зв'язування інгібіторів з ферментом?

6. У списку скорочень для глюкози наведено позначення Glu. Разом з тим, це стандартне позначення глутамінової кислоти, яке теж зустрічається в тексті (наприклад, на с. 31, 32). Загальноприйняте позначення глюкози – Glc.

Сиволоб Андрій Володимирович, доктор біологічних наук, професор, професор ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Надав позитивний відгук із зауваженнями та запитаннями:

1. Серед ключових слів фігурує "лікування", яке виглядає занадто неконкретним. Зайвим предствляється також слово "рак", оскільки нижче у переліку ключових слів представлена також "онкологія".

2. Рис. 3.3 виглядає зайвим, оскільки представлена на ньому крива використана в якості контролю на наступному рисунку.

3. У багатьох тестах (як наприклад на рис. 3.8) стандартний інгібітор O⁶-бензилгуанін виглядає більш ефективним у порівнянні з новими, при тому, що його цитотоксичність дещо нижча (рис. 3.1, 3.2). Виникає питання, у чому ж перевага нових досліджених у роботі інгібіторів? У тексті роботи є міркування з цього приводу, але хотілося більш чіткого обговорення цього питання.

4. Обговорюючи рис. 3.9, авторка зазначає, що алкілувальна сполука "MNNG значно підвищує рівень аутофагії у клітинах U251MG", хоча

підвищення становить приблизно 10% і ніякої статистичної оцінки достовірності такого підвищення не наведено. З іншого боку, при обговоренні рис. 3.10 зазначається, що для тих самих клітин у присутності інгібіторів "рівень аутофагії зріс незначно", хоча ефекти явно більш суттєві, ніж на рис. 3.9.

5. Залишається не зовсім зрозумілим, які конкретно кількісні показники, що вони характеризують "рівень аутофагії" і "рівень летальності" представлені на рис. 3.9, 3.10, 3.12.

6. При обговоренні своїх результатів стосовно визначення рівня аутофагії та рівня летальності авторка підкреслює, що дані флуоресцентної спектрометрії і мікроскопії "загалом співпадають". Така констатація є зайвою, оскільки не співпадати вони не можуть у принципі: спектрометрія полягала у кількісному аналізі флуоресцентних мікроскопічних зображень. Відповідно, більш логічним було б спочатку навести зображення, а потім їх кількісний аналіз.

7. На рис. 4.1–4.3 медіана зазвичай не співпадає з середнім значенням, що означає відсутність нормального розподілу. Відповідно, наведені значення стандартних відхилень (як і середні значення) не мають сенсу.

8. У тексті дисертації зустрічаються граматичні помилки, не зовсім коректні терміни та стилістичні негаразди. Зокрема,

- "результати вносять вагомий внесок" (стор. 27);

- "... клітини обробляли потенційні інгібітори..." (стор. 61);

- "... була серія клітин оброблені лише..." (стор. 65);

- флуоресцентна мікроскопія скрізь позначається як "мікрофотографія";

- некоректним є також термін "флуоресцентна спектрофотометрія", який зустрічається у тексті дисертації;

- не зовсім зрозуміло, що мається на увазі під "культуральними методами" у першому висновку.

Кашуба Олена Віталіївна, доктор біологічних наук, професор, завідувач лабораторії молекулярних механізмів трансформації клітин Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р.Є. Кавецького НАН України. Надала позитивний відгук із запитаннями:

1. Як впливають вибрані інгібітори на нормальні клітини? Чи порівнювали ефективність інгібування росту пухлинних клітин, отриманих із пухлин різного ступеню агресивності?

2. Чи розглядає можливість використання пухлинних клітин раку молочної залози у культурах, у паралелі з використаною моделлю мишей із раком молочної залози? Чому було вибрано пухлинні лінії клітин HeP2 – раку гортані та T98G – клітин гліобластоми?

Результат відкритого голосування:

«За» - 5

«Проти» - 0

На підставі результатів відкритого голосування разова спеціалізована вчена рада постановила:

1. Присудити Жуваці Катерині Сергіївні ступень доктора філософії з галузі знань 09 - Біологія, спеціальність - 091 Біологія.
2. Рішення разової спеціалізованої ради затвердити.
3. Підготувати наказ про видачу Жуваці Катерині Сергіївні диплома доктора філософії та додатка до нього європейського зразка.

Відеозапис трансляції захисту дисертації додається.

Голова разової спеціалізованої
вченої ради


(підпис)

Валерій Філоненко
(власне ім'я та прізвище)

