

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Прилуцької Іванни Миколаївни

«Протипухлинний потенціал комплексів природних олігорибонуклеотидів з D-манітолом на різних модельних системах *in vitro* та *in vivo*», представлену на здобуття наукового ступеня Доктора філософії в галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія.

Актуальність теми дисертації. Захворювання на рак залишається одною із найскладніших проблем біології і медицини на сьогоднішній день, яка потребує найскорішого вирішення. Для лікування злоякісних новоутворень, особливо солідних пухлин, найкращими методами все ще є хірургія, радіо- та хіміотерапія. Імунотерапія наразі використовується також, проте вартість лікування може складати десятки тисяч доларів США. Хіміотерапія, на відміну від імунотерапії, використовується більш широко, проте залишається невирішеним питання про загальну цитотоксичність препаратів та їх негативний вплив на нетрансформовані клітини організму. Тому пошук нових природних хімічних сполук із нижчою токсичністю для організму людини є важливим і актуальним напрямком досліджень. На підставі вищесказаного, актуальність представленої роботи не викликає сумнівів. Автором вибрано експериментальну модель клітин меланоми миші B16 для досліджень *in vitro* та *in vivo* для вивчення можливої профілактики та лікування злоякісного процесу за умов використання препаратів олігорибонуклеотидів (ОРН) та їх комплексів з D-манітолом (ОРН-D-M), що показали раніше широкий спектр біологічних ефектів.

Я вважаю, що дослідження потенційної протипухлинної, протизапальної, імуномодулюючої та противірусної дії комплексів ОРН-D-M є важливим і актуальним. Також важливим і актуальним є вивчення властивостей нового інтеркалюючого барвника на основі акридинового оранжевого для проведення кількісної ланцюгової полімеразної реакції

(кПЛР), що показав себе набагато ефективнішим порівняно із комерційними аналогами.

Оцінка достовірності, ступеню обґрунтованості і новизни наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Метою представленої дисертаційної роботи було дослідження потенційної протипухлинної активності природних препаратів олігорибонуклеотидів (ОРН) та їх комплексів з D-манітолом (ОРН-D-M) у експериментальній моделі лінії клітин меланоми миші B16 *in vitro* та на експериментальних тваринах (мишах) *in vivo*.

Для виконання поставлених задач дисертантка застосувала сучасні методи дослідження, включаючи рутинні методи культивування пухлинних ліній клітин миші (B16, ембріональні фібробласти миші, клітинні лінії людини та собаки), експериментальні методи введення пухлинних клітин у тварини (миші), МТТ-тест (виживаність клітин), проточний флуоресцентний цитометричний аналіз (аналіз клітинного циклу), методи дослідження динаміки росту пухлин в експериментальних тваринах, кПЛР, електрофорез, статистичний аналіз даних (за допомогою програмного забезпечення GraphPad Prism, v.8) з використанням тестів для непараметричних даних.

Достовірність наукових положень, висновків і практичних рекомендацій дисертаційної роботи обґрунтовано вдало обраним комплексом методологічних підходів для досягнення поставленої мети та вирішення завдань дослідження.

Наукова новизна одержаних результатів. Наукова новизна результатів дисертації Прилуцької І.М. полягає у тому, що вперше продемонстровано протипухлинні властивості ОРН-D-M, причому даний препарат ефективно діє на злоякісні клітини при низьких концентраціях і демонструє цитотоксичний ефект у нормальних клітинах при концентраціях, вищих у 4-5 разів, як мінімум. Вперше показано, що ОРН-D-M викликає також цитостатичний ефект, впливаючи на клітинний цикл, а також викликає апоптоз у пухлинних клітинах. На молекулярному рівні застосування ОРН-D-

М призводить до модуляції функції Nfk- β та зниження рівня прозапальних і проапопточних молекул, таких як *Il1b*, *Tnfa*, і *Bcl2*, відповідно.

Практичне значення одержаних результатів. Показано можливість використання комплексів природних препаратів олігорибонуклеотидів з Д-манітолом (ОРН-D-M) в якості сполук, що демонструють протизапальну, імуномодулюючу, протівірсну і протипухлинну дію *in vitro* та *in vivo* в експериментальній моделі клітин меланоми миші B16.

Отримані результати дисертаційного дослідження є експериментальним підґрунтям для вивчення потенційного використання ОРН-D-M в якості протипухлинного препарату.

Показано, що інтеркалюючий барвник на основі димерів акридинового оранжевого є набагато ефективнішим за Eva Green і CYBR Green I, що дає основу для подальшої розробки сумішей для проведення кПЛР.

Мова та стиль викладення результатів. Повнота викладу результатів дисертації в опублікованих працях. Дисертаційна робота написана українською мовою науковим стилем. Основні положення та результати дисертації повністю висвітлені у наукових працях та оприлюднені на наукових конференціях та викладені у 13 наукових роботах і 1 патенті: 5 статтях у провідних фахових виданнях, затверджених МОН України, 8 – тези доповідей. Основний зміст дисертаційної роботи повністю відображено в опублікованих наукових працях. **Оцінка змісту дисертації.** Дисертація оформлена із дотриманням існуючих правил, відповідно до вимог наказу МОН України від 12 січня 2017 р. №40 «Про затвердження вимог до оформлення дисертації». Дисертаційна робота побудована за традиційною схемою, складається з Вступу, Огляду літератури, розділів Матеріали та методи досліджень, Результати експериментальних досліджень (три глави), Аналіз та узагальнення результатів та Висновків. **У Вступі** авторка ґрунтовно означила актуальність обраної теми, сформулювала мету і задачі, розкрила її наукову новизну і практичне значення. **Огляд літератури** структурований і складається із 4 підрозділів, у яких авторка проаналізувала більшість вагомих

літературних першоджерел з теми дослідження. Так, детально обговорено запалення та його роль у канцерогенезі, роль нуклеїнових кислот у терапії раку, характеристика комплексів ОРН-D-M, аналіз властивостей барвників для кПЛР.

Практично всі найбільш вагомі наукові джерела за останніх 5 – 10 років було включено в аналіз. Огляд літератури змістовний, логічно побудований, аргументовано викладений.

У другому розділі «Матеріали та методи досліджень» представлено методи, які було застосовано для вивчення функціональної активності комплексів ОРН-D-M та властивостей нового інтеркалюючого барвника для кПЛР. Детально описано експериментальні моделі *in vitro* та *in vivo*. Загалом алгоритм дослідження є вдалим та цілком виправдовує поставлену мету.

У третьому розділі викладено результати власних досліджень; цей розділ є найбільш фундаментальним з точки зору залучення сучасних молекулярно-біологічних методів та демонструє оволодіння дисертанткою усіма сучасними лабораторними методами, вміння глобального аналізу зібраного матеріалу для вивчення властивостей ОРН-D-M як потенційного протипухлинного препарату, а також викрито ряд молекулярних основ цитостатичної і цитотоксичної дії вказаних сполук.

У четвертому розділі «Аналіз та узагальнення результатів» дисертаційної роботи, проведено аналіз отриманих результатів. Авторка, інтегруючи результати власних досліджень, зводить їх у єдину систему, зіставляє з даними джерел літератури, а також висловлює власні міркування з можливості використання ОРН-D-M в якості прозапального і протипухлинного препарату, базуючись на його впливі на ключові клітинні процеси – виживаність клітин, регуляцію клітинного циклу, апоптоз, тощо. У цьому розділі надається можливість у цілому охопити масштабну наукову роботу дисертантки, простежити за умотивованою послідовністю реалізованих дослідницьких кроків, усвідомити основні положення, їх інтерпретацію та з'ясувати зв'язок з наступними висновками, які

сформульовано у восьми пунктах, які повністю відповідають меті, задачам та результатам проведеного дослідження. Вірогідність одержаних результатів підтверджена їх адекватною статистичною обробкою.

Оприлюднення результатів дисертаційної роботи. Основні наукові результати дисертаційної роботи повністю висвітлені у наукових працях та оприлюднені на наукових конференціях та викладені у 13 наукових роботах: 5 статтях у провідних фахових виданнях, затверджених МОН України, і у 8 пар тез доповідей. Основний зміст дисертаційної роботи повністю відображено в опублікованих наукових працях.

Недоліки та зауваження до дисертаційної роботи. В дисертації мають місце окремі орфографічні та стилістичні помилки, які, втім, не перешкоджають адекватному сприйняттю результатів роботи і не впливають на загальну високу оцінку дисертаційної роботи.

Втім, є питання, що стосується використання препаратів ОРН-D-M для протипухлинної терапії. Чим може бути обумовлена нижча активність даного препарату при дії на вже проліферуючі злоякісні клітини у організмі тварин у порівнянні із одночасним введенням препарату і пухлинних клітин у організм миші? Чи пов'язаний цей ефект із ступенем агресивності пухлин?

У цілому висловлені зауваження не є визначальними, не зменшують наукову новизну і практичну значимість результатів та не впливають на загальну високу оцінку дисертаційної роботи.

Висновок про дисертаційну роботу

Вважаю, що дисертаційна робота здобувачки ступеня Доктора філософії **Прилуцької Івонни Миколаївни** на тему «Протипухлинний потенціал комплексів природних олігорибонуклеотидів з D-манітолом на різних модельних системах *in vitro* та *in vivo*» виконана на високому науковому рівні, не порушує принципів академічної доброчесності та є завершеним науковим дослідженням, сукупність теоретичних та практичних результатів якого розв'язує наукові проблеми, що мають істотне значення для біології. На

підставі оцінювання роботи за рівнем рівня наукової новизни, системності узагальнень і практичної цінності результатів, методологічної ґрунтовності та дотримання усіх формальних критеріїв вважаю, що представлене дисертаційне дослідження повністю відповідає чинним вимогам чинного законодавства України, що передбачені у пп. 6-9 «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 17.11.2021 №1197 (із змінами, внесеними згідно з Постановами КМ №507 від 03.05.2024 і №928 від 30.07.2025) та наказу МОН України від 23.09.2019 №1220 (із змінами та доповненнями).

Здобувачка Прилуцька Іванна Миколаївна зробила цінний особистий внесок у науковий напрям «молекулярна онкологія» і заслуговує на присудження ступеня доктора філософії в галузі 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія.

Офіційний опонент:

Кашуба Олена Віталіївна, завідувачка лабораторії молекулярних механізмів трансформації клітини Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є Кавецького НАН України
професор, д.б.н.

 Олена КАШУБА

Підпис Олени Кашуби засвідчую:

В.о. вченого секретаря ІЕПОР ім. Р.Є Кавецького НАН України

К.б.н



Людмила МАКОВЕЦЬКА