

**ВІДГУК**  
**офіційного опонента на дисертацію Шалай Ярини Романівни**  
**«Роль вільнорадикальних процесів у антинеопластичній активності**  
**похідних тіазолу», подану на здобуття наукового ступеня кандидата**  
**біологічних наук за спеціальністю 03.00.02 – біофізика**

*Актуальність теми дисертаційної роботи.* За даними ВООЗ онкопатологія є однією з основних причин смертності. Так, згідно із статистичними даними (<http://www.worldlifeexpectancy.com/country-health-profile/ukraine>) лімфома належить до 50 найбільш ймовірних причин смерті в Україні та посідає 34 місце – 3,1 випадків на 100 000 населення (для порівняння лімфома посідає 134 місце у світовому рейтингу найбільш ймовірних причин смерті). Найдієвішим способом лікування злоякісних новоутворень є хіміотерапія. Не зважаючи на численні дослідження по створенню нових ефективних протипухлинних препаратів, їх інтенсивний пошук не припиняється. Так, за даними електронно-пошукової системи pub med кількість публікацій за темою anticancer drug/activity лише за останні 5 років становить понад 30 000. Серед протипухлинних препаратів особливий інтерес у дослідників викликають похідні тіазолу, завдяки різноманітності їх біологічної активності.

Важлива роль у механізмах протипухлинної дії різних речовин належить вільнорадикальним процесам. З одного боку, вільні радикали, зокрема АФК, задіяні в механізми клітинної сигналізації. З іншого боку, вільні радикали залучені у механізми виникнення пухлин, а також у токсичність протипухлинних препаратів і є основною причиною їх побічних ефектів. З вільнорадикальними процесами тісно пов'язані ензими антиоксидантного захисту, а також енергетичні процеси у мітохондріях. Відомо, що злоякісна трансформація супроводжується порушенням про/антиоксидантного гомеостазу. Оксидативний стрес, який виникає у результаті гіперпродукції вільних радикалів викликає мітохондріальну дисфункцію, активацію стрес-опосередкованих сигнальних шляхів та енергетичний дисбаланс. Відтак, вивчення впливу похідних тіазолу на пухлинні клітини та з'ясування ролі окисних, антиоксидантних і енергетичних процесів у цитотоксичних ефектах має наукову і практичну актуальність.

*Зв'язок теми з державними і галузевими програмами.* Дисертаційну роботу виконано у рамках двох науково-дослідних тем кафедри біофізики та біоінформатики Львівського національного університету імені Івана Франка: «Енергетичні процеси у мітохондріях ракових клітин та гепатоцитів за дії азолів та похідних фурану з протипухлинною активністю» (№ держреєстрації 0116U001533) та «Механізми подолання резистентності та підвищення ефективності протипухлинної дії похідних тіазолу в комплексі з нанорозмірними полімерними носіями» (№ держреєстрації 0119U002201).

*Наукова новизна одержаних результатів* полягає у встановленні вираженої цитотоксичної дії *in vitro* двох похідних 2-аміно-5-бензил-1,3-тіазолу (БФ1) та піразолопіридину (ПП2) на пухлинні клітини меланому, гліобластоми і мієлоїдної лейкемії та з'ясуванні ролі окисних, антиоксидантних і енергетичних процесів у цитотоксичних ефектах у лімфомі NK/Ly. Встановлено, що ефекти досліджуваних похідних у клітинах лімфоми реалізуються через зміну інтенсивності вільнорадикальних процесів. Зокрема вміст первинних продуктів ПОЛ зростає за дії БФ1 та не змінюється за дії ПП2, а вміст вторинних продуктів знижується за дії ПП2. Водночас, за дії похідних тіазолу знижується рівень супероксидного радикалу. Зміна інтенсивності вільнорадикальних процесів за дії похідних тіазолу супроводжується порушеннями активностей ензимів антиоксидантного захисту, зокрема активність СОД зростає, а активність каталази і GRx знижується. Вивчено також дію похідних тіазолу на непухлинні клітини та встановлено, що досліджувані сполуки мають набагато меншу токсичність щодо здорових ембріональних клітин нирки людини та кератиноцитів. Досліджено інтенсивність процесів ПОЛ, активність антиоксидантних ензимів та параметри дихання і окисного фосфорилування у мітохондріях клітин печінки, як основного детоксикуючого органу, за дії досліджуваних похідних тіазолу та встановлено, що досліджувані речовини не впливали на вищевказані процеси.

*Практичне значення роботи* полягає у розкритті механізмів дії *in vitro* двох похідних 2-аміно-5-бензил-1,3-тіазолу та піразолопіридину, які можуть бути протестовані в доклінічних дослідженнях як протипухлинні препарати. Отримані результати можуть бути впроваджені у навчальний процес на кафедрах біофізики та біоінформатики і фізіології людини і тварин Львівського національного університету імені Івана Франка у загальному курсі «Біофізика» та спецкурсів «Неоплазія», «Біоенергетика».

*Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих в дисертації.* Сформульовані положення та висновки ґрунтуються на експериментальних даних, отриманих на достатній кількості повторностей в експерименті і одночасному проведенні вимірів в контрольній групі та групах, які піддавалась дії досліджуваних сполук. Одержані результати піддавали статистичному аналізу із використанням сучасних підходів до оцінки вірогідних відмінностей. Наукові положення обґрунтовані, висновки відповідають поставленим задачам та змісту роботи і повністю відображають результати.

У виконанні даної роботи особливо важливим був підбір адекватних методів вирішення поставлених завдань, що дозволило дисертантці отримати достовірні експериментальні результати.

*Повнота викладу наукових положень і висновків в опублікованих працях.* Обсяг друкованих робіт повністю відповідає вимогам МОН України щодо публікацій основного змісту дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата наук. Матеріали дисертаційної роботи у повному обсязі відображено у 6 статтях у наукових фахових виданнях з біологічних наук, з

них 2 статті – у наукових періодичних виданнях, включених до наукометричної бази Scopus, також були представлені на наукових міжнародних і вітчизняних наукових конференціях (13 тез доповідей). Дисертантці належить суттєвий внесок у плануванні експерименту, його виконанні, опрацюванні наукової літератури та отриманих результатів.

Автореферат дисертації, стиль і форма написання якого відповідають загальним вимогам, об'єктивно відображає зміст і головні результати дисертаційної роботи.

*Структура роботи.* Дисертаційну роботу Шалай Я.Р. викладено за класичною схемою на 151 сторінці комп'ютерного набору. Вона побудована за традиційною схемою: складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, результатів досліджень та їх обговорення, узагальнення, висновків та списку літератури, що містить 192 літературні джерела. Співвідношення та обсяг окремих частин роботи відповідають вимогам до оформлення дисертації, затверджених МОН України. Результати дисертаційної роботи проілюстровано 40 рисунками та 2 таблицями.

У вступі авторка обґрунтовує актуальність дослідження вільнорадикальних процесів у антинеопластичній активності похідних тіазолу. Дисертантка коректно формулює мету і завдання, об'єкт і предмет дослідження. Перелік положень, які мають наукову новизну та практичне значення, відповідає суті виконаної роботи.

У розділі “Огляд літератури” достатньо повно розглянуто сучасні уявлення про АФК, процеси ПОЛ, антиоксидантну систему захисту, оксидативний стрес за патологічних станів організму. Висвітлено роль мітохондрій у метаболізмі пухлинних клітин. Подано коротку характеристику про клітинні моделі у дослідженнях *in vivo/in vitro* та досліджувані похідні, як потенційні протипухлинні препарати.

У розділі «Матеріали і методи дослідження» подано схеми проведення експериментів та детальний опис методів дослідження. Обраний набір методів є достатнім для характеристики процесів ПОЛ, активності ензимів антиоксидантної системи, енергетичних процесів у мітохондріях за цитотоксичної дії похідних тіазолу на пухлинні клітини та гепатоцити.

У розділі III «Результати досліджень та їх обговорення» дисертантка систематизує результати власних досліджень у відповідності до поставлених завдань. Наведено результати щодо цитотоксичності похідних тіазолу стосовно різних культур пухлинних клітин та ультраструктурні зміни клітин лімфоми за дії похідних тіазолу. Представлено результати впливу досліджуваних речовин на життєздатність непухлинних клітин *in vitro*, модуляції цитотоксичності похідних тіазолу сквенджерями АФК. Наведено результати впливу похідних тіазолу на інтенсивність процесів ліпопероксидації, активність ензимів антиоксидантного захисту, параметри дихання та окисного фосфорилування, мембранний потенціал мітохондрій у клітинах лімфоми. Подано результати впливу досліджуваних речовин на інтенсивність процесів ліпопероксидації, активність ензимів антиоксидантного захисту, параметри дихання та окисного

фосфорилування у мітохондріях печінки. Отримані результати описані логічно, послідовно та опрацьовані статистично. Текст дисертації добре структурований.

У розділі 4 дисертанткою проведено узагальнення отриманих результатів дослідження. Авторка критично розглядає отримані дані, проводить їх порівняння з даними літератури. Основні положення дисертаційної роботи відображені у 6-ти висновках, які відповідають поставленим завданням.

*Дискусійні положення та зауваження щодо дисертації.* Незважаючи на безсумнівну важливість наукових результатів Шалай Я.Р., при ознайомленні з дисертаційною роботою виникає ряд запитань та зауважень, зокрема:

1. Як авторка визначає термін “прооксидантний та антиоксидантний метаболізм”, що використовується як об’єкт дослідження? Чи під даним терміном розуміється прооксидантний та антиоксидантний баланс/гомеостаз/рівновага?
2. Як дисертантка пояснює різнонапрямлені зміни активностей ензимів антиоксидантного захисту (зростання активності СОД та пригнічення активностей каталази та GPx) у клітинах лімфоми за дії досліджуваних похідних?
3. Чим зумовлені різні методологічні підходи до визначення вмісту супероксидного радикалу у лімфомі та гліобластомі?
4. Чому для визначення цитозольної (Cu,Zn-СОД) та мітохондріальної (Mn-СОД) СОД дисертантка використовувала розділення на фракції, замість преінкубації з KCN для інактивації Cu,Zn-СОД?
5. Для повноти змін за дії похідних 2-аміно-5-бензил-1,3-тіазолу та похідних піразолопіримідину, як потенційних протипухлинних препаратів, які можуть зумовлювати оксидативний стрес не вистачає результатів про активність глутатіон-S-трансферази – ключової детоксикаційної системи, що інактивує токсичні продукти ліпопероксидації (на відміну від GPx).
6. Поширеність онкопатології, її частку у структурі смертності у вступі до дисертації, а відтак актуальність дисертаційної роботи необхідно було б підтвердити посиланнями на дані ВООЗ.
7. У розділі “Речовини, що використовували у роботі” не зазначено де синтезували досліджувані сполуки та чи підтверджували їх структуру.
8. Варто відзначити деяку невідповідність термінів сучасній термінології (зокрема, активність ензимів виражена на мг білка, ферменти, перехоплювачі та ін.). Слід використовувати загальноприйнятий термін «АФК», замість «АФО», адже мова йде про відновлення молекули кисню і продукти його часткового відновлення.
9. Некоректності в оформленні рисунків та таблиць у дисертації, зокрема: 1) рис. 3.8 не зазначено об’єм вибірки та вірогідність змін; 2) на рис. 3.10 не вказано чи це результати типового досліду чи середні величини; 3) рис. 3.15, рис. 3.19, рис. 3.36-3.40 не зазначено об’єм вибірки. Таблиця 3.1 не зазначено об’єм вибірки та вірогідність змін.

Зауваження, які виникли до рецензованої роботи, носять здебільшого дискусійний характер та не знижують наукової цінності отриманих результатів.

#### Висновок

На основі вищезазначеного вважаю, що дисертаційна робота Шалай Ярини Романівни «Роль вільнорадикальних процесів у антинеопластичній активності похідних тіазолу» за своєю актуальністю, науковою новизною, теоретичною та практичною значимістю, об'ємом виконаних досліджень та достовірністю зроблених висновків є завершеною науковою працею і відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567 (із змінами, внесеними згідно з Постановами КМУ № 656 від 19.08.2015 р., № 1159 від 30.12.2015 р. та № 567 від 27.07.2016 р.) стосовно кандидатських дисертацій, а її авторка заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності 03.00.02 – біофізика.

Офіційний опонент –  
доцент кафедри біофізики  
Львівського національного  
медичного університету  
імені Данила Галицького МОЗ України,  
кандидат біологічних наук, доцент

Р.В. Фафула



Підпис

ЗАСВІДЧУЮ  
ВЧЕНИЙ СЕКРЕТАР  
Львівського національного  
медичного університету  
імені Данила Галицького