

До разової спеціалізованої ради ДФ 35.051.110  
Львівського національного університету  
імені Івана Франка  
м. Львів, вул. Університетська, 1

## РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу Ільків Марти Володимирівни  
за темою: “Цитотоксична дія похідного тiazолу в комплексі з  
ПЕГ-вмісними полімерними наноносіями”, яка представлена  
на здобуття наукового ступеня доктора філософії  
з галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія

*Актуальність теми дисертації.* Щорічно, 4 лютого, починаючи з 2005 року, Міжнародний протираковий союз (Union for International Cancer Control, UICC) у Всесвітній день боротьби з раковими захворюваннями прагне привернути увагу громадськості до своєчасності виявлення, профілактики раку, якості лікування. Чому цей День досі залишається актуальним, незважаючи на те, що скоро буде 20 років від першої події? Відповідь на це питання є досить простою – знизити кількість випадків передчасної смерті від раку та підвищити якість життя онкологічних пацієнтів. Чи помирають люди від онкологічних захворювань? Так, більше 10 мільйонів смертей щорічно. Чи залишається онкологічні захворювання однією з основних причин захворюваності та смертності в усьому світі? Так. Чому людство не може знайти ефективних способів профілактики чи лікування таких захворювань? Напевне тому, що ми не звикли щорічно проходити повний медичний огляд організму, навіть незважаючи на те, що кожна четверта людина знаходиться у зоні ризику розвитку неоплазії, тому, що за щоденними проблемами забуваємо про підступність цього захворювання, тому, що лікування все ж лишається надто консервативним.

Представлена дисертаційна робота є свідченням того, що біологи не стоять осторонь цієї складної проблеми, адже ґрунтовні наукові дослідження проводяться в стінах класичного Університету задля удосконалення уже наявних терапевтичних ліків і з метою пошуку нових ефективних цільових методів лікування. Не викликає сумніву, що актуальними науковими дослідженнями є встановлення біологічних ефектів протипухлинних препаратів, зокрема цитотоксичного механізму похідного тiazолу N-(5-бензил-1,3-тіазол-2-іл)-3,5-диметил-1-бензофуран-2-карбоксаміду (БФ1) в комплексі з нанорозмірними поліетиленгліколь-вмісними полімерними носіями (ПЕГ-ПН) задля покращення розчинності досліджуваної речовини та підвищення її проникнення у пухлинні клітини.

Вважаю, що вибір теми дослідження цілком виправданий, має важливе практичне значення, а актуальність роботи не викликає сумніву.

***Зв'язок дисертаційної роботи з державними чи галузевими науковими програмами.*** Дисертаційну роботу виконували на кафедрі біофізики та біоінформатики біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка в рамках науково-дослідної теми “Механізми подолання резистентності та підвищення ефективності протипухлинної дії похідних тіазолу в комплексі з нанорозмірними полімерними носіями” (2019–2021 рр., № держреєстрації 0119U002201). Дисертантка була виконавцем цієї теми.

***Ступінь обґрунтованості та достовірність наукових положень, висновків і рекомендацій, сформованих у дисертації.*** Дисертанткою чітко сформульована мета (дослідити цитотоксичний механізм дії протипухлинного похідного тіазолу БФ1 в комплексі з нанорозмірними ПЕГ-вмісними полімерними носіями, які використовували для покращення розчинності досліджуваної речовини) та окреслено сім основних завдань роботи для досягнення цієї мети. Усі експериментальні результати, наукові положення і висновки дисертаційної роботи побудовані на матеріалах власних досліджень. Результати отримані за допомогою сучасних взаємодоповнюючих методів досліджень, є науково обґрунтованими та достовірними.

Статистичну обробку отриманих результатів здійснено в програмі GraphPad Prism 5.04 (GraphPad Software, Inc, США), Microsoft Office Excel 2010 (Microsoft, США). Статистичну достовірність різниці між контрольними та дослідними групами визначено за критерієм Стьюдента (Т-тест), а також однофакторним дисперсійним аналізом (“One-way ANOVA”) із використанням поправки Бонферроні (Bonferroni test).

***Основні наукові результати, одержані автором, та їхня новизна.*** Новизна отриманих дисертанткою основних наукових результатів:

- за використання трьох полімерних ПЕГ-вмісних наноносіїв створено комплекси протипухлинного похідного тіазолу БФ1, які характеризуються покращеною розчинністю та доставкою до клітин-мішеней;
- вперше встановлено, що вільні ПЕГ-вмісні полімерні носії та їх комплекси з БФ1 не є цитотоксичними щодо непухлинних клітин ліній НЕК293 та НІН3Т3, тоді як БФ1 в комплексі з ПЕГ-ПН проявляє виражену цитотоксичну дію щодо певних пухлинних клітин тварин і людини порівняно з некон'югованою речовиною, а також за впливу створеного комплексу посилюється БФ1-

- індукований апоптоз і некроз пухлинних клітин лімфоми порівняно зі сполюкою у вільному стані;
- експериментально доведено, що комплекс БФ1 + ПЕГ-ПН посилює утворення активних форм кисню й активує перекисне окиснення ліпідів, зумовлює підвищення активності супероксиддисмути на фоні зниження активності глутатіонпероксидази та каталази;
  - вперше встановлено, що лише у комплексі з ПЕГ-ПН похідне тіазолу БФ1 обумовлює зниження мітохондріального мембранного потенціалу клітин лімфоми;
  - уперше визначено відсутність впливу ПЕГ-ПН та його комплексів з БФ1 на вільнорадикальні процеси, функціонування внутрішньоклітинних ензимів антиоксидантного захисту та процеси перекисного окиснення ліпідів у клітинах печінки мишей-пухлиноносіїв NK/Ly;
  - *in vivo* на експериментальній моделі асцитної лімфоми NK/Ly мишей виявлено посилення протипухлинної дії похідного тіазолу БФ1 у комплексі з полімерними носіями та, що є дуже важливим, зниження токсичного впливу на клітини крові мишей з лімфою;
  - розроблено схему механізмів цитотоксичної дії похідного тіазолу БФ1 у комплексі з ПЕГ-вмісними полімерними носіями.

***Теоретичне та практичне значення отриманих результатів дослідження.*** Варто зазначити, що проведені Мартою Володимирівною експериментальні дослідження цитотоксичної дії тіазолу у комплексі з полімерними наноносіями створюють базове наукове підґрунтя для аналізу ефективності системи доставки вищих доз хіміотерапевтичних засобів до пухлинних утворень, порівняння ефекту покращення проникності ліків, оцінки прогнозування побічних ефектів ліків, пошуку способів збільшення їхньої розчинності в біологічних тканинах.

Експериментально доведено покращення розчинності та доставки похідного тіазолу БФ1 за допомогою ПЕГ-вмісних полімерних носіїв, посилення протипухлинного ефекту за створення такого комплексу задля ефективного терапевтичного використання досліджуваної речовини у майбутніх доклінічних і клінічних дослідженнях.

Запропонована система доставки протипухлинних агентів зумовить можливість використання ефективних протипухлинних препаратів, яке може бути обмежене їхньою поганою розчинністю у водному середовищі та, як наслідок, значно знижувати очікуваний терапевтичний ефект.

Відсутність значної токсичності досліджуваних ПЕГ-вмісних полімерних носіїв на непухлинні клітинні лінії та гепатоцити мишей сприятиме розширенню

застосування отриманих наноносіїв у інших галузях фармакології для створення нових нетоксичних систем доставки ліків.

Отримані результати дисертаційного дослідження можуть бути впроваджені в навчальний процес і наукову роботу кафедр біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка. Апробовані методики досліджень можуть використовувати студенти, аспіранти та наукові співробітники для подальших наукових досліджень.

***Апробація результатів дисертації, повнота викладу основних положень, висновків і рекомендацій.*** У роботі наведено 7 висновків, які чітко узгоджуються зі сформульованими завданнями дисертаційної роботи й отриманими результатами. Основні наукові результати та висновки дисертації пройшли апробацію на міжнародних і всеукраїнських конференціях в період з 2020 по 2023 рр., а також були перевірені під час рецензування публікацій у фахових виданнях.

За результатами дисертаційного дослідження опубліковано 6 статей в українських фахових виданнях, які належать до міжнародної наукометричної бази *Scopus*:

- дві статті у 2021 р. у журналах: *Studia Biologica; Cytology and Genetics*, що належить до третього (Q3) квартиля відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank,
- три статті у 2022 р.: дві з яких у журналі *Studia Biologica*; одна в *Biopolymers and Cell*, що належить до четвертого (Q4) квартиля відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank,
- одну статтю в 2023 р. у журналі *The Ukrainian Biochemical Journal*, що належать до четвертого (Q4) квартиля відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank.

Науковою працею, яка додатково відображає наукові результати дисертації є колективна монографія “Протипухлинні перспективи сульфуровмісних гетероциклів” 2021 р. видання (Львів: ЛНУ імені Івана Франка, 112 с.).

Сукупність усіх публікацій відображає викладені в дисертації результати дослідження, що відповідає вимогам п. 8, 9 вимог до присудження ступеня доктора філософії “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.

***Відомості про дотримання академічної доброчесності.*** У наукових публікаціях і дисертаційній роботі Ільків Марти Володимирівни на тему “Цитотоксична дія похідного тіазолу в комплексі з ПЕГ-вмісними полімерними

наноносіями” не виявлено ознак академічного плагіату, фальсифікації чи інших порушень, що могли б поставити під сумнів самостійний характер виконання дисертанткою представленого наукового дослідження. Текст є оригінальним, всі цитати коректно позначені та вказані в списку використаних джерел.

**Структура та зміст дисертації.** Дисертаційна робота відповідає вимогам щодо оформлення дисертацій, затвердженим наказом Міністерства освіти і науки України від 12.01.2017 р. № 40.

Дисертацію викладено на 174 сторінках українською мовою, основна частина становить 126 сторінок, проілюстровано 45 рисунками та 6 таблицями. Робота складається з анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, результатів власних досліджень, узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел і додатка. Рукопис містить список цитованої літератури, до якого входять 181 найменування.

Дисертаційна робота розпочинається з анотації та ключових слів, які написані державною та англійською мовами, списку публікацій здобувача за темою дисертації, переліку умовних скорочень і змісту роботи. В анотації стисло представлені основні результати дослідження із зазначенням наукової новизни і практичного значення.

У **“Вступі”** (с. 20–26) обґрунтовано актуальність обраної теми, відображено зв’язок роботи з науково-дослідною темою кафедри біофізики та біоінформатики, сформульовано мету та завдання дослідження, наведено об’єкт, предмет та методи досліджень, визначено наукову новизну та практичне значення одержаних результатів, описано особистий внесок здобувача, анотовано апробацію результатів дисертації та публікації, а також наведена коротка інформація про структуру й обсяг дисертації.

У першому розділі дисертаційної роботи **“Огляд літератури”** (с. 27–53) розглянуто дані наукових публікацій про значення активних форм оксигену в життєдіяльності нормальних і ракових клітин, охарактеризовано антиоксидантну систему захисту та її роль за онкологічних станів, описано особливості клітинного дихання за онкологічних трансформацій. Автором роботи детально проаналізовано протипухлинні властивості похідних тіазолу, зокрема наведено приклади тіазоловмісних препаратів, які використовують у клініці, різновиди наноносіїв та їхнє використання для підвищення ефективності доставки протипухлинних препаратів.

Цей розділ проілюстровано оригінальними рисунками. Наприклад, рисунок 1.4 демонструє основні відмінності клітинного дихання нормальних і пухлинних клітин за аеробних та анаеробних умов. Проведений аналіз літературних джерел дав змогу здобувачці зробити висновок про пріоритетність обраного напрямку наукової роботи.

У другому розділі **“Матеріали та методи дослідження”** (с. 54–69) детально описано сполуки, які використовували в роботі, а також на трьох рисунках наведено їхні структурні формули. Описано клітинні лінії, які використовували в експериментах, і умови утримання лабораторних мишей та прививання експериментальної моделі лімфоми NK/Ly миші для вивчення дії досліджуваних сполук. Наведено методику визначення цитотоксичної активності досліджуваних сполук, методику видалення печінки мишей-пухлиноносіїв з лімфою NK/Ly. Представлена узагальнена схема дослідження електронної мікроскопії, наведено визначення вмісту активних форм кисню та вимірювання мембранного потенціалу мітохондріальної мембрани клітин лімфоми NK/Ly методом флуоресцентної мікроскопії. Описано методики визначення вмісту супероксидного радикалу в клітинах печінки мишей з лімфою NK/Ly, первинних і вторинних метаболітів перекисного окиснення ліпідів, дослідження активності ензимів антиоксидантного захисту, вимірювання цитологічних показників у крові мишей з прищепленою лімфою NK/Ly, полярографічні дослідження дихання клітин лімфоми NK/Ly за впливу досліджуваних сполук. Також описано статистичну обробку результатів із використанням програмного забезпечення GraphPad Prism 5.04 (GraphPad Software, Inc, США), Microsoft Office Excel 2010 (Microsoft, США). Представлена інформація про етапи, об'єкти, методи та обсяг досліджень чітко відповідає меті та завданням дисертації.

У третьому розділі **“Результати досліджень та їх обговорення”** (с. 70–121) відображено результати дослідження цитотоксичної дії похідного тіазолу в комплексі з ПЕГ-вмісними полімерними носіями на пухлинні та непухлинні клітини *in vitro*, кількісний аналіз мікрофотографій електронної мікроскопії клітин лімфоми за впливу похідного тіазолу БФ1 в комплексі з ПЕГ-вмісними полімерними носіями, а також вплив похідного тіазолу БФ1 та його комплексів з ПЕГ-вмісними полімерними носіями на генерування активних форм кисню, вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів, активність ензимів антиоксидантного захисту, швидкість дихання та мітохондріальний мембранний потенціал клітин лімфоми NK/Ly. В цьому розділі детально описано експериментальне дослідження вільнорадикальних процесів та активності ферментів системи антиоксидантного захисту у гомогенатах печінки мишей за дії похідного тіазолу БФ1 та його комплексів з ПЕГ-вмісними полімерними носіями. Досліджено протипухлинну дію БФ1 і його комплексу з ПЕГ-вмісними полімерними носіями *in vivo* на експериментальній моделі лімфоми Немет-Келнера.

Отримані результати досліджень висвітлено у п'ятих таблицях і на тридцяти трьох рисунках.

У четвертому розділі **“Аналіз та узагальнення результатів дослідження”** (с. 122–143) дисертантка аналізує отримані результати, даючи ґрунтовні наукові

відповіді на ряд ключових запитань своєї роботи. Зокрема, чому полімерні носії покращують цитотоксичну ефективність БФ1? Чи ефективніший БФ1 в комплексі із полімерними наносіями за Доксорубіцин? Яка роль оксидативного стресу в цитотоксичному ефекті БФ1? Чи залучені мітохондрії у цитотоксичну дію БФ1? Чи не є БФ1 токсичним щодо гепатоцитів? Чи впливає БФ1 на масу лімфоми, виживаність тварин і клітини крові *in vivo*? У кінці цього розділу дисертанткою подано аналіз отриманих даних у вигляді підсумкової схеми, яка відображає механізм цитотоксичної дії похідного тіазолу БФ1 в комплексі з ПЕГ-вмісними полімерними носіями.

**Висновки** (с. 144–145): сформульовано сім висновків, які логічно випливають з одержаних результатів, науково обґрунтовані, відповідають меті та завданням дослідження.

**Список використаних джерел** (с. 146–169) оформлено за встановленим стандартом та сформовано в порядку їх згадування в роботі.

Рукопис завершується додатком А, який містить список публікацій здобувачки за темою дисертації. Перелік наукових праць, в яких опубліковано основні наукові результати дисертації – 6 статей; праці, які додатково відображають наукові результати дисертації – одна колективна монографія; праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації – 8 тез доповідей на міжнародних і всеукраїнських конференціях. Окремо наведено відомості про апробацію результатів дисертації.

**Зауваження до дисертації.** Подана дисертаційна робота вказує на наукову зрілість дисертантки, її вміння бачити актуальні проблеми біології. Загалом, дисертаційна робота Ільків М. В. за своїм змістом і формою є завершеним самостійним науковим дослідженням. Високо оцінюючи наукове і практичне значення дисертаційної роботи, висловлюю деякі зауваження та побажання:

1. Декілька аббревіатур, які використовує у роботі автор, не пояснено в анотації (ПЕГ, EPR).
2. Незрозумілими є умовні скорочення ПЕГ-вмісних полімерних наноносіїв на початку роботи. Наприклад, полі(ВЕР-ко-ГМА)-графт-мПЕГ (Th1), полі(ПЕГМА) (Th3) та полі(ПЕГМА-ко-ДММ) (Th5).
3. У роботі дисертанткою наведено дуже інформативний рисунок 1.4 про дихання нормальних і пухлинних клітин за аеробних та анаеробних умов, проте ні в тексті, ні в підписі до рисунку не пояснено відмінності між анаеробним та аеробним гліколізом. У цьому ж розділі “1.3. Клітинне дихання за онкологічних трансформацій” автором не описано причину різної кількості генерації АТФ (від 32 до 38 молекул) за повного окиснення однієї молекули глюкози.

4. В розділі 2.1 описано синтез і структуру лише трьох полімерних ПЕГ-ПН (Th1, Th3, Th5), а в таблиці 2.1 вже згадується три інших, спосіб отримання яких не охарактеризовано.
5. У розділі “2.4. Утримання лабораторних мишей...” не наведено протокол Комітетом з контролю етичних норм поводження з тваринами біологічного факультету, який би підтверджував етичне поводження з тваринами.
6. У тексті роботи є декілька орфографічних і стилістичних помилок, які дещо погіршують сприйняття наукової інформації.

Однак, вищенаведені зауваження істотно не впливають на науково-практичну цінність роботи і загальну позитивну оцінку дисертації.

***Висновки про відповідність дисертації встановленим вимогам.***

Дисертаційна робота Ільків Марти Володимирівни на тему “Цитотоксична дія похідного тіазолу в комплексі з ПЕГ-вмісними полімерними наночастицями” є завершеною науковою роботою. Вважаю, що за актуальністю та новизною тематики, об’ємом і ґрунтовністю аналізу й інтерпретацією результатів проведеного дослідження, а також науково-теоретичним і практичним значенням дисертаційна робота відповідає вимогам наказу Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 р. № 40 “Про затвердження Вимог до оформлення дисертацій” і затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 12.01.2022 р. № 44 “Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії”, а дисертантка – Ільків Марта Володимирівна – з урахуванням виконання в повному обсязі освітньої складової освітньо-наукової програми та індивідуального плану наукової роботи, заслуговує присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 09 “Біологія” за спеціальністю 091 “Біологія”.

**Рецензент:**

к.б.н., доцент кафедри біохімії  
біологічного факультету  
Львівського національного університету  
імені Івана Франка, доцент

**Ірина БРОДЯК**