

ВІДЗИВ ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

на дисертаційну роботу Шульги Сергія Михайловича

«Створення транспортних наносистем на основі есенціальних фосфоліпідів олії соняшника для посилення біологічних ефектів куркуміну»,
поданої до захисту на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук
за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія.

Дисертаційна робота Шульги С.М. присвячена **актуальній проблемі** – розробці наносистем, які необхідні для підвищення ефективності дії біологічно активних речовин. Важливо відзначити, що створені автором роботи системи для доставки активних фармацевтичних інгредієнтів з поганою розчинністю у воді є біосумісними і біодеградабельними, оскільки вони синтезовані на основі рослинних або тваринних фосфоліпідів.

У дисертаційній роботі Шульги С.М. здійснено комплексне дослідження структурно-функціональних особливостей взаємодії флавоноїдів (куркумін і його похідні) з амілоїдними та мікобактеріальними пептидами., а також розроблені ліпосомальні форми для транспортування цих фармацевтичних інгредієнтів в організмі з метою запобігання процесам запалення, зокрема під час розвитку хвороби Альцгеймера.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Роботу виконано у відповідності до тематик Державної установи «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України», а також в рамках українсько-японського проекту ДФФД України «Дослідження взаємодії куркуміну з клітинними мішенями та відбір і створення його функціонально ефективних форм» (№0118U102391, 2018-2019 рр.), українсько-японського проекту ДФФД України «Дослідження прямого та непрямого радіаційного опромінення на біологічні системи» (№0114U0052376, 2013-2014 рр.), українсько-турецького проекту НАН України «Одержання природних лецитинів та ліпосомальних наноемульсій з горіхів ліщини та олії соняшника» (№ 0109U0000471, 2011-2012

рр.). Із назви тем перелічених проектів видно, що вони перегукуються з темою дисертаційної роботи Шульги С.М.

Наукова новизна одержаних результатів. Результати комп'ютерного моделювання, здійсненого автором роботи, дозволяють краще зрозуміти механізми функціонування мономерів амілоїдного пептиду ($A\beta$), зокрема в складі димерів, тримерів, гексамерів і нонамерів, а також підійти до з'ясування механізмів утворення агрегатів $A\beta$ в процесі розвитку хвороби Альцгеймера. Створено ліпосомальну форму аденозинтрифосфату (АТФ) для перорального застосування і ліпосомальну форму куркуміну із фосфоліпідів для назального застосування. Ідентифіковані амінокислотні залишки (Arg5, Asp7, Glu22, Asp23 і Lys28), які сприяють взаємодії $A\beta$ з молекулами води шляхом утворення мережі водневих зв'язків і підвищують стабільність сольватованого гексамера $A\beta$. Встановлено, що куркумін може брати участь в процесах утворення $A\beta$ -мономерів шляхом взаємодії із сайтами процесінгу $A\beta$. Важливим досягненням в роботі є дані про те, що куркумін здатний усувати ініціюючий вплив $A\beta_{42}$ на пул прозапальних цитокінів ($IL-1\beta$ і $TNF\alpha$) моноклеарів, але не впливає на їхню секрецію.

Науково-практична цінність роботи. За результатами досліджень, проведених на моделі вивчення хвороби Альцгеймера, запропоновані механізми взаємодії куркуміну з амілоїдними пептидами. Продемонстровано ефективність використання куркуміну в ліпосомальній формі для пригнічення запалення, що виникає за цієї патології. Патентом України на корисну модель (№ 129295 від 2018 р.) зафіксовані терапевтичні ефекти, виявлені в експериментальних тварин щодо супресії запальних процесів, що виникають під час нейродегенеративних захворювань. Запропоновану в роботі назальну терапію куркуміном рекомендовано для впровадження в практику лікування хвороби Альцгеймера на доклінічній стадії її розвитку. Важливо також відзначити як практичне досягнення за результатами роботи організацію промислового виробництва з потужністю 30 тон/місяць знежиреного лецитину

соняшника «ТУ У 211.1.38873237-001.2013»), придатного як харчовий емульгатор і біологічно активна добавка. Розроблено і затверджено технічні умови «ТУ У 15.4-02128514-021: 2015, Фосфатидилхолін (L- α -лецитин) з фосфатидного концентрату соняшнику, 50%-й розчин». Розроблені інноваційні підходи із застосуванням нанобіотехнологій дозволяють планувати цільову доставку фармацевтичних сполук з використанням вітчизняних субстанцій.

За результатами дисертаційної роботи її автор одержав 7 патентів України, у т.ч. один патент на винахід. Вони стосуються як способу отримання ліпосомальної форми куркуміну, так і способу пригнічення нейрозапалення і корекції пам'яті при хворобі Альцгеймера в експерименті.

Мета роботи і 8 завдань для її виконання сформульовані конкретно і чітко.

Методи дослідження, застосовані під час виконання дисертаційної роботи, в цілому, адекватні спеціальності, за якою відбувається захист, а саме «біотехнологія».

Об'єкт і предмет дослідження. Вираз «...та їх роль в розвитку хвороби Альцгайма» правильніше було вжити в розділі «**Предмет дослідження**», а не в розділі «**Об'єкт дослідження**», як це вказано автором роботи.

11 висновків, зроблених за результатами проведених досліджень, є достатньо конкретними і витікають з даних, наведених у дисертаційній роботі.

Особистий внесок здобувача. Виконана робота є комплексною з використанням великого арсеналу різних методів. Тому в ній були задіяні співробітники інших установ, зокрема НВФ «Біолер», НДІ медико-біологічних проблем Дніпропетровської медичної академії, Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України. Моделювання хвороби Альцгеймера та оцінку ступеня впливу ліпосомальної форми куркуміну в експериментальних тварин на про- та антизапальні інтерлейкіни проведені спільно із к.б.н. В.В. Соколик і д.м.н. О.Г. Берченко на базі лабораторії нейрофізіології, імунології та біохімії ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології НАМН України». Серед

зарубіжних партнерів дисертанта – співробітники Технологічного Університету міста Тойохаші (Японія), які допомогли виконати молекулярне моделювання утворення і взаємодії мономерів A β у різних модельних системах.

Апробація результатів дисертації. Апробація основних результатів дисертаційної роботи відбулася на чисельних вітчизняних і міжнародних конференціях, серед яких необхідно відзначити конференції Американського Товариства Хіміків Жирів (2012 р., Лонг-Біч, США; 2014 р., Сан-Антоніо, США; 2013 р., Монреаль, Канада), X-й міжнародний конгрес з фосфоліпідів (2011 р., Роттердам, Нідерланди), 11-й Конгрес Європейської федерації ліпідів (2012 р., Стамбул, Туреччина).

У списку наукових публікацій за результатами дисертаційної роботи Шульги С.В. - 27 статей, зокрема, 10 статей у виданнях 1-го і 2-го кuartилів (Q1 і Q2) за класифікацією SCImago Journal або Journal Citation Reports. Серед міжнародних видань, де опубліковані ці статті, слід відзначити: Chem. Physics. (2020), Chem. Phys. Lett. (2019, 2018, 2017, 2017, 2015), J. Liposome Res. (2016), J. Alzheimer's Dis. Parkinsonism (2017) та інші. Крім того, матеріали цієї роботи містяться у 2-х монографіях і 7-ми патентах України. До цього переліку необхідно віднести кілька Технічних Умов на готову продукцію, оформлення і затвердження яких вимагає значних зусиль їхніх авторів.

Разом з високою оцінкою дисертаційної роботи Шульги С.М. до окремих її положень можна висловити ряд **зауважень**, у т.ч. редакційних, а також **запитання і побажання**, які викладені нижче.

1. Дисертаційна робота Шульги С.М. є достатньо різнопланово з використанням як експериментальних моделей, так і комп'ютерного моделювання. Крім того, в меті роботи автор говорить про «...застосування ліпосомальної форми куркуміну як нового лікарського засобу у випадку нейродегенеративних захворювань», хоча реально він працював лише з

моделями хвороби Альцгаймера. У зв'язку з цим автору роботи необхідно чітко сформулювати **основні положення, які виносяться на захист**.

2. В обґрунтуванні вибору теми дослідження автор стверджує: «.....оскільки відомості щодо інгібіторів процесів запалення та молекулярних і структурно-біологічних механізмів специфічної взаємодії амілоїдних пептидів практично відсутні». Це твердження не відповідає дійсності і тому краще написати "відомості неповні чи протиречиві", або пояснити, в чому автор бачить «практично відсутні відомості».

3. У Завданні 6 сказано «Дослідити взаємодію куркуміну з сайтами рестрикції AβPP *in silico*». Взагалі, термін «рестрикція» вживається переважно для нуклеїнових кислот. Тому необхідно пояснити, що саме має на увазі автор під терміном "рестрикція". Можливо, краще замінити його терміном "часткове розщеплення".

4. Вираз "та їх роль в розвитку хвороби Альцгеймера" слід перенести з рубрики «**Об'єкт дослідження**» у рубрику «**Предмет дослідження**».

5. Розділи «**Наукова новизна отриманих результатів**» і «**Практичне значення отриманих результатів**» викладені безсистемно. У цих розділах доцільно було зробити узагальнювальні підсумки, або викласти їх у більш зрозумілій логічній послідовності, а не як механічний перерахунок фактів.

6. Розділ «**Практичне значення отриманих результатів**» починається реченням «Результати дослідження мають **фундаментальне значення** для деталізованого розуміння каскаду механізмів». Взагалі, не логічно розпочинати розмову про практичне значення з твердження про фундаментальне значення. В кращому випадку, це речення підходить на кінець 1-го абзацу «Практичного значення». Адже практичне значення не може полягати у фундаментальному значенні.

7. Автор в тексті усієї роботи використовує невдалий термін "досліджували методом" - правильно "досліджували, використовуючи метод, чи за допомогою методу".

8. У підписі до Рис. 12 вказано: Вигляд ліпосом з фосфоліпідів соняшника: а) 3D-формат, б) на площині. Необхідно було вказати метод оцінювання вигляду ліпосом, оскільки кожен рисунок повинен бути самодостатнім і містити усю інформацію для сприйняття і розуміння представлених даних.

9. У підписі до Рис. 17 вказано: Просторова структура моделі А β фібрил *in vivo*, PDB: 2M4J. Читачу необхідно шукати в тексті, що означають останні два скорочення. Аналогічно, у підписі до Рис. 20 вказано: Структура комплексу А β нонамер + Zn, отримана методом моделювання MD при 27,734 ns. Необхідно шукати в тексті, що означає скорочення, чи цинк тут виступає як метал, чи як катіон, чому тут вказано «ns», а в попередньому рисунку – «нс».

10. У підписі до Рис. 30 вказано: Динаміка показників..... - абсциса: частка позитивних відповідей (необхідно пояснити в підписі), латентний період (необхідно пояснити в підписі). Рисунок повинен бути самодостатнім.

11. Дисертант вживає термін «хвороба Гентінгтона», тоді як правильно писати «хвороба Гантінгтона» від англійського терміну «Huntington's disease».

12. У Вступі автор пише «Європейська комісія склала програму (Nanoroadmap Medical and Health) Європейського Союзу найбільш важливих, на їхню думку, розділів з науково-дослідного і технологічного розвитку на 2020–2025 рр. нанобіотехнологій в біомедицині.....». Якщо це цитування, то необхідно було навести адресу веб-сторінки, де про це сказано.

Висновок. На основі вищевикладеного вважаю, що дисертаційна робота «Створення транспортних наносистем на основі есенціальних фосфоліпідів олії соняшника для посилення біологічних ефектів куркуміну», де розділами є публікації здобувача (у кількості не менше 10 у виданнях, віднесених до першого і другого кuartилів (Q1 і Q2) відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank або Journal Citation Reports), є завершеним оригінальним науковим дослідженням, яке за актуальністю, новизною,

важливістю, достовірністю, а також практичною цінністю одержаних наукових результатів відповідає вимогам пп. 9, 10, 12, 13 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою КМУ № 567 від 24.07.2013 р. зі змінами, внесеними згідно з Постановами КМУ № 656 від 19.08.2015 р., № 1159 від 30.12.2015 р., № 567 від 27.07.2016 р., № 943 від 20.11.2019 р. та № 607 від 15.07.2020 р., Вимогам до оформлення дисертації, затверджених наказом МОН України від 12.01.2017 р. № 40, зареєстрованого у Міністерстві юстиції України 03.02.2017 р. за № 155/30023 щодо докторських дисертацій, а її автор, Шульга Сергій Михайлович, заслуговує присудження наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.20 - біотехнологія.

Офіційний опонент,

завідувач відділу регуляції проліферації клітин і апоптозу

Інституту біології клітини НАН України,

доктор біологічних наук, професор,

член-кореспондент НАН України



Стойка Р.С.

Львів, 22 квітня 2021 р.

Підпис члена-кореспондента НАН України Стойки Р.С. засвідчую:

Вчений секретар Інституту біології клітини НАН України,

к.б.н.



Барська М.Л.