

## **ВИСНОВОК**

наукового керівника Олександра МІНЧЕНКА,  
д.б.н., професора, член-кор. НАН України, завідувача відділу  
молекулярної біології Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України  
на дисертаційну роботу Ольги РУДНИЦЬКОЇ  
«Вплив карбонових наночастинок на експресію генів, які контролюють  
проліферацію, у клітинах людини та тварин»,  
що подається на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 09  
Біологія, за спеціальністю 091 Біологія

### **1. Особливості проходження підготовки в аспірантурі та виконання освітньо-наукової програми підготовки доктора філософії**

Ольга РУДНИЦЬКА зарахована до аспірантури з відривом від виробництва зі спеціальності «091 Біологія» Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України (Інституту) з 01 листопада 2018 року (Наказ № 8-а від 09.10.2018 р.) для виконання освітньо-наукової програми (ОНП) підготовки за навчальним планом освітньої складової (33 кредитів ЄКТС) для здобуття вищої освіти ступеня доктора філософії. Рішенням Вченої ради Інституту від 05.02.2019 р. (Протокол №2) затверджений індивідуальний план наукової роботи та тема дисертації «Вплив карбонових наночастинок на експресію генів, що контролюють проліферацію, у клітинах людини та тварин». Звітування щодо виконання індивідуального плану ОНП підготовки доктора філософії подавалося щороку згідно строків (1-й рік – 21.11.2019 р.; 2-й рік – 16.11.2020 р.; 3-й рік – 05.10.2021 р.; 4-й – 13.10.2022 р.). Всі блоки ОНП, обов'язкові дисципліни та дисципліни за вибором здобувача і вибором Інституту, РУДНИЦЬКОЮ О. освоєні успішно та у повному обсязі. Протягом 2018-2022 рр. нею повністю завершено експериментальну роботу, рукопис дисертації і опубліковано статті в фахових журналах з висвітленням матеріалів дисертації. Всю документацію для звітування здобувач оформлювала та надавала вчасно. У зв'язку із закінченням терміну навчання в аспірантурі з відривом від виробництва Інституту була відряджена з аспірантури з 31 жовтня 2022 року (Наказ № 9-а від 07.10.2022 року).

### **2. Особливості формування індивідуальної освітньої траєкторії та виконання індивідуального плану здобувача**

За час навчання в аспірантурі Ольга РУДНИЦЬКА набула рівня компетентності, що відповідає вимогам підготовки доктора філософії, який складається з трьох основних блоків. Загально-науковий блок охоплював засвоєння знань і досягнення результатів навчання з обов'язкових навчальних дисциплін, а також за вибором Інституту та вільного вибору аспіранта. До універсальних навичок дослідника відносилося оприлюднення власних результатів дослідження у фахових наукових виданнях та їх апробація на наукових конференціях і конгресах. Спеціальні навички охоплювали здатність до продукування нових ідей та розв'язання комплексних проблем у галузі професійної і/або дослідницько-інноваційної діяльності, а також до застосування сучасних методологій, методів та інструментів педагогічної і наукової (творчої) діяльності за фахом.

Обов'язкові навчальні дисципліни, а саме філософія науки та культури, іноземна мова за професійним спрямуванням, організація підготовки дисертації, педагогіка вищої школи, асистентська педагогічна практика і комплексний іспит зі спеціальності, були успішно завершені та складені на «відмінно» (92-99 балів за шкалою закладу освіти). Також на «відмінно» були складені дисципліни вибору Інституту (91-98 балів) і дисципліни вільного вибору аспіранта (96-100 балів). У ході проходження асистентської педагогічної практики були підготовлені освітні матеріали та проведено 2 лекційних, 5 семінарських і 5 практичних занять для студентів, що виконували курсові і дипломні роботи у відділі молекулярної біології, а також здійснювалася кураторська робота над проходженням виробничої практики закріпленого за здобувачем студента 1-го курсу магістратури, яка полягала у консультуванні та контролі його самостійної роботи за темою кваліфікаційної роботи магістра. Окрім того, за час проходження ним асистентської практики були підготовлені і надіслані у співавторстві тези на наукову конференцію за темою дипломної роботи студента, а також здійснювалася підготовка його до доповіді.

Універсальні навички здобувача були закріплені та підтверджені у ході написання статей і тез за матеріалами дисертаційної роботи. Зокрема, було

опубліковано 13 робіт, з них 4 статті в іноземних фахових наукових виданнях, які представлені в базах Scopus та PubMed, і 9 тез доповідей у матеріалах вітчизняних та міжнародних наукових конференцій і біохімічного конгресу. За час навчання у аспірантурі здобувач була учасником тренінгу «Управління лабораторними ризиками» (2018 р.) та освітніх семінарів-тренінгів FEBS (2019 р.) за результатами проходження яких були отримані відповідні сертифікати.

Спеціальні навички для забезпечення здатності до продукування нових ідей і розв'язання комплексних проблем у галузі біохімії та молекулярної біології були здобуті шляхом детального аналізу і обговорення статей, опублікованих у престижних міжнародних журналах, з подальшим висуненням аспіранткою ідей про нові шляхи вирішення ключових проблем біохімії та молекулярної біології. Частина ідей була реалізована у ході пошукових досліджень із застосуванням сучасних методів молекулярної біології. Використання методів біоінформатики також збагатило навички аспіранта до продукування нових ідей і розв'язання комплексних проблем регуляції експресії генів, зокрема на пост-транскрипційному рівні. Ідея про роль транскрипційних факторів у механізмах дії наночастинок було збагачена аналізом промоторних ділянок генів на наявність сайтів зв'язування цих факторів. Ольга Рудницька розробила свої педагогічні підходи у роботі із магістрами, виконанні магістерської роботи та її презентації. Її наукова діяльність за фахом також була насичена новими ідеями про механізми впливу наночастинок на клітини і живі організми, про генотоксичність та біонебезпеку карбонових наночастинок, про необхідність детального і всебічного вивчення їх впливу на організм перед початком використання у біомедицині.

### **3. Успіхи у набутті компетентностей наукового пошуку**

Попри те, що РУДНИЦЬКА Ольга у 2018 році закінчила Київський національний університет імені Тараса Шевченка за спеціальністю «Екологія», за час своєї трудової діяльності (працює у відділі молекулярної біології з 2018 року) та навчання в аспірантурі за ОНП підготовки доктора філософії в Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна вона досягла значних теоретичних і практичних успіхів у галузі біохімії та молекулярної біології.

Згідно з сучасною класифікацією компетентностей вказаних у методичних рекомендаціях щодо стандартів вищої освіти (згідно наказу Міністерства освіти і науки України від 01.06.2017 р. № 600 (у редакції наказу Міністерства освіти і науки України від 30.04.2020 р. № 584)) здобувачем досягнені наступні результати у ході проходження програми підготовки для здобуття наукового ступеня доктора філософії:

**Знання:** Ольга Рудницька детально ознайомила із сучасними досягненнями у вивченні механізму дії різних наночастинок на клітини і живі організми, що знайшло відображення в розділі дисертаційної роботи “Огляд літератури”. Вона також ознайомила із методологією цих досліджень та статистичного аналізу результатів дослідження та використала набуті знання при плануванні роботи, що відображено у розділі “Матеріали і методи” її дисертації.

**Уміння 1:** Ольга Рудницька успішно освоїла сучасні методи біохімії та молекулярної біології, які вважала необхідними для виконання своєї дисертаційної роботи, а у процесі роботи генерувала нові ідеї і втілювала деякі із них у життя досить успішно.

**Уміння 2:** Вона започаткувала свою роботу з постановки конкретних завдань, виконання яких мало сприяти досягненню поставленої мети, коригування послідовності їх виконання та аналізу результатів, їхньої достовірності.

**Уміння 3:** Ольга Рудницька постійно критично аналізувала отримані результати, синтезувала нові ідеї і намагалася реалізувати їх. Особливо це стосувалося аналізу змін в експресії тих чи інших генів, на що вони вказують та як їх трактувати, чи можуть вони вказувати на генотоксичність наночастинок.

**Комунікація 1:** Ольга Рудницька вільно спілкується з питань механізмів дії наночастинок на клітини і організми, їх генотоксичності та біобезпеки, можливих негативних наслідків використання наночастинок у біомедицині, неодноразово представляла результати своїх досліджень на міжнародних наукових форумах, у тому числі і на Українському біохімічному конгресі.

**Комунікація 2:** Свої доповіді вона робила як академічною українською мовою, так і англійською. У професійній діяльності та дослідженнях використовує академічну українську мову і за необхідності – англійську.

**Відповідальність та автономія 1:** Ольга Рудницька користується повагою і авторитетом серед колег, здатна самостійно ставити та виконувати наукові задачі. Для неї характерна доброчесність, послідовна відданість генерації нових ідей у своїй професійній діяльності і їх розвитку.

**Відповідальність та автономія 2:** Вона постійно вдосконалює та поглиблює свої знання, для неї характерним є самовдосконалення і навчання цьому інших.

#### **4. Актуальність теми дисертаційної роботи**

Як зазначалося вище, тема дисертаційної роботи РУДНИЦЬКОЇ Ольги сформульована наступним чином: «Вплив карбонових наночастинок на експресію генів, що контролюють проліферацію, у клітинах людини та тварин». Численні наукові публікації присвячені дослідженню злоякісних новоутворень свідчать про особливу тяжкість лікування пухлин головного мозку, зокрема таких як гліобластоми. Наявні методи лікування мають недоліки, зокрема, відсутність специфічності, множина резистентність до лікарських препаратів, а також наявність цитотоксичних впливів на здорові клітини. З метою подолання цих обмежень вченими розглядаються нові шляхи лікування і діагностики захворювань, зокрема нанотехнологічні підходи з використанням наночастинок. Проте, поряд з позитивними ефектами від їх застосування, вкрай необхідно враховувати також можливі негативні ефекти від використання наноматеріалів, у тому числі і карбонових наночастинок, оскільки вони можуть впливати на здоров'я та життя людини. Саме тому, з'ясування молекулярних механізмів дії карбонових наночастинок на геном нормальних клітин, зокрема астроцитів, є надзвичайно важливим напрямком біохімічних досліджень. Вивчення експресії генів є одним з перспективних підходів для виявлення чутливих маркерів порушень, що виникають за дії наночастинок на нормальні клітини. Результати цих досліджень можуть бути використані для вивчення механізмів розвитку індукованих наночастинками метаболічних ускладнень і

захворювань. Як уже зазначалося раніше, ці результати можуть бути особливо цінними також для ранньої діагностики онкологічних захворювань, оскільки на сьогодні вони залишаються однією із провідних причин високого рівня захворюваності та смертності. Окрім цього, виявлені маркери можуть бути використані і для покращення існуючих чи розробки нових методів лікування, зокрема скринінгу новосинтезованих агентів.

### **5. Зв'язок роботи з науковими програмами, темами, планами.**

Дисертаційну роботу виконано протягом 2018–2022 рр. у відділі молекулярної біології Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України у рамках проведення планових досліджень за бюджетними темами: «Роль стресу ендоплазматичного ретикулума у функціональній перебудові геному і пошук генів-мішеней для пригнічення росту гліом», № ДР 0116U001027 (2016–2020 рр.), «Молекулярні механізми взаємодії сигнальних шляхів стресу ендоплазматичного ретикулума та гіпоксії в репрограмуванні геному клітин гліоми», № ДР 0121U100662 (2021–2025 рр.) та «Біохімічні механізми контролю системних міжклітинних взаємодій, регулювання сигнальних мереж та клітинних функцій за умов норми та патологічних станів», № ДР 0117U002624 (2017–2021 рр).

### **6. Наукова новизна отриманих результатів.**

Вперше було встановлено, що в культурі нормальних астроцитів людини лінії NHA/TS за умов дії на них дуже малих доз одностінних карбонових нанотрубок (single-walled carbon nanoparticles – SWCNTs) спостерігаються виражені зміни рівня експресії різних за своїм функціональним значенням генів. Виявлені зміни в експресії генів ключових регуляторних факторів за дії на астроцити нанотрубок були різними за величиною, залежали від дози наночастинок і віддзеркалюють перепрограмування геному за участі стресу ендоплазматичного ретикулума. Показано також, що під впливом малих доз SWCNTs змінюється також рівень мікроРНК, а це свідчить про можливість і пост-транскрипційної регуляції експресії генів через локалізовані в 3'-нетранслюючих послідовностях мРНК специфічні сайти зв'язування мікроРНК.

При дослідженні дії наночастинок оксиду графену на нормальні астроцити людини лінії NHA/TS було також виявлено різнонаправлені зміни в експресії генів ключових регуляторних факторів, які істотно залежали від їх дози.

Показано також, що експресія мРНК важливих регуляторних факторів у нормальних астроцитах є більш чутливою до дії на них SWCNTs у порівнянні з клітинами гліобластоми лінії U87MG. Так, великі зміни в експресії мРНК *DNAJB9* та *BRCA1* були виявлені у нормальних астроцитах людини лінії NHA/TS за дії на них дуже низьких концентрацій карбонових наночастинок, тоді як у клітинах гліобластоми лінії U87MG їх ефект на рівень експресії цих генів був значно меншим, що може бути обумовлено індукованою стресом ендоплазматичного ретикулума резистентністю пухлинних клітин. Крім того, пригнічення ERN1 у клітинах гліобластоми майже повністю знімало вплив SWCNTs на експресію генів *DNAJB9* та *BRCA1*.

Встановлено, що тривала експозиція ембріонів *Danio rerio* з одностінними карбоновими нанотрубками порушує експресію мікроРНК miR-143, miR-145, miR-182 і miR-206, які контролюють процеси проліферації та нейрогенезу, що може сприяти розвитку мальформацій у мозку ембріонів.

## **7. Наукове та практичне значення дослідження**

Отримані результати мають важливе наукове значення оскільки спрямовані на вирішення актуальної наукової проблеми щодо впливу карбонових наночастинок на експресію ключових регуляторних генів у нормальних та пухлинних клітинах людини та в ембріонах *Danio rerio*. Крім того, вони розкривають механізми дії карбонових наночастинок на нормальні клітини і вказують на генотоксичність цих наночастинок і потенційні ризики за умов їх використання у біомедичних цілях. Практичне значення полягає у виявленні дії карбонових наночастинок, зокрема SWCNTs та оксиду графену на геном нормальних астроцитів людини, на рівень експресії мРНК і мікроРНК, які приймають участь у регуляції процесів проліферації та виживання клітин, шляхом індукції стресу ендоплазматичного ретикулума і перепрограмування геному. Виявлені зміни в експресії ключових регуляторних генів можуть бути

підґрунтям для розвитку різноманітних патологій, у тому числі й порушень розвитку головного мозку, і вказують на можливі негативні наслідки застосування карбонових наночастинок для медико-біологічних цілей.

#### **8. Повнота викладення матеріалу дисертації в наукових публікаціях**

Результати, представлені у дисертації повністю висвітлені у 4 наукових статтях іноземних фахових видань, які представлені у наукових базах Scopus і PubMed, та 9 тезах доповідей у матеріалах вітчизняних та міжнародних наукових конференцій та біохімічного конгресу.

#### **9. Структура та зміст дисертації, її завершеність і відповідність установленим вимогам щодо оформлення**

Структура та зміст дисертації відповідають вимогам щодо оформлення цих рукописів згідно Наказу МОН №40 від 12.01.2017 р. Дисертація містить всі структурні елементи, такі як титульний аркуш, анотація (українською та англійською мовами), зміст, перелік умовних скорочень, основна частина, список використаних джерел і додаток. Дисертаційна робота викладена на 146 сторінках друкованого тексту, основна частина складається із вступу, чотирьох розділів (огляд літератури, матеріали та методи, результати досліджень і обговорення результатів) та висновків. Робота містить 29 рисунків і 6 таблиць, список використаних літературних джерел включає 248 посилань. Робота є завершеною та відповідає всім установленим вимогам щодо оформлення.

#### **10. Дотримання принципів академічної доброчесності**

Дисертаційна робота здобувача РУДНИЦЬКОЇ Ольги повністю відповідає п.12 Постанови Кабінету Міністрів України «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» від 12 січня 2022 р., №44 щодо вимог доброчесності, оскільки не містить плагіату, самоплагіату, фальсифікації і фабрикації, містить результати, отримані особисто, у всіх інших випадках наводяться посилання на співавторів наукових публікацій та відповідні джерела.

#### **11. Дискусійні положення та зауваження до дисертації**



На даний момент зауважень до дисертації не маю, оскільки всі зауваження, які виникали під час виконання і написання дисертаційної роботи були повністю враховані авторкою дисертації. Ця робота є фундаментальною працею, що ініціює генерацію нових ідей і дискусійних положень. Саме в цьому полягає головна важливість цієї дисертаційної роботи. Одним із найважливіших дискусійних положень є “Доцільність використання наночастинок для медичних цілей”, оскільки в її наукових публікаціях чітко продемонстровано порушення в експресії мРНК і мікроРНК у нормальних клітинах людини під впливом нанограмових доз карбонових наночастинок, причому нормальні клітини виявилися більш чутливими до дії наночастинок порівняно з пухлинними клітинами. А в ембріонах зебристих рибок виявлено не лише виражені порушення в експресії мікроРНК, а і нейродегенерація.

## **12. Загальний висновок**

Дисертаційна робота Ольги РУДНИЦЬКОЇ «Вплив карбонових наночастинок на експресію генів, що контролюють проліферацію, у клітинах людини та тварин» за актуальністю, науково-теоретичним рівнем, новизною постановки і розв’язанням проблем, практичним значенням відповідає вимогам Постанови Кабінету Міністрів України «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» від 12 січня 2022 р., № 44, а здобувач заслуговує на присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 09 – Біологія, за спеціальністю 091 – Біологія.

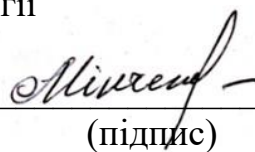
Науковий керівник:

д.б.н., професор, член-кор. НАН України,

завідувач відділу молекулярної біології

Інституту біохімії

ім. О.В. Палладіна НАН України



Олександр МІНЧЕНКО

(підпис)

19.09.2023р