

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор Інституту біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України,
академік НАН та АМН України,
доктор біологічних наук, професор
Сергій КОМІСАРЕНКО
протокол № 1 від 17.10. 2023 р.



ВИСНОВОК

про наукову новизну, теоретичне та практичне
значення результатів дисертації

Ольги РУДНИЦЬКОЇ

«Вплив карбонових наночастинок на експресію генів, які контролюють
проліферацію, у клітинах людини та тварин»,
поданої на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії
в галузі знань 09 – Біологія, за спеціальністю 091 – Біологія

1. Актуальність теми дисертаційної роботи. Злоякісні новоутворення залишаються на сьогодні однією з провідних причин високого рівня захворюваності та смертності. До найбільш агресивних і тяжких для лікування злоякісних новоутворень відносять пухлини головного мозку, у тому числі гліобластоми. Наявні методи лікування, такі як хіміотерапія, імунотерапія, променева та таргетна терапії мають обмеження щодо свого використання, що пов'язано з відсутністю специфічності, множиною резистентністю до лікарських препаратів і наявністю цитотоксичних впливів на здорові клітини. Для подолання цих обмежень вчені розглядають застосування нових підходів та матеріалів, зокрема нанорозмірних.

У силу своїх специфічних фізико-хімічних властивостей наночастинок володіють більшою стійкістю, підвищеною проникністю та ефектом утримання, а також здатністю до точнішого націлювання, що дозволяє суттєво знизити загальну токсичність. Проте ці ж самі властивості можуть стати причиною виникнення і негативних ефектів. Саме тому, виявлення можливих негативних ефектів використання карбонових наночастинок на молекулярно-генетичному рівні необхідне перед їх впровадженням у різних сферах біології та медицини і є досить актуальним напрямом наукових досліджень.

2. Мета та завдання дисертації. Метою роботи було дослідити вплив малих доз карбонових наночастинок на експресію генів, що кодуєть протеїни пов'язані з процесами проліферації і виживанням клітин, стресом ендоплазматичного ретикулула та канцерогенезом, а також мікроРНК у нормальних астроцитах людини лінії HNA/TS та клітинах гліобластоми U87MG.

Для досягнення поставленої мети необхідно було виконати наступні завдання:

1) Дослідити вплив оксиду графену на рівень експресії генів, що приймають участь у контролі процесів проліферації і виживання клітин, у нормальних астроцитах людини лінії NHA/TS.

2) Вивчити ефект карбонових нанотрубок на рівень експресії генів, які задіяні в регуляції процесів проліферації, у нормальних астроцитах людини.

3) Дослідити вплив карбонових нанотрубок на рівень експресії генів, які регулюють виживання клітин, у нормальних астроцитах.

4) Порівняти дію карбонових нанотрубок на рівень експресії генів у нормальних астроцитах і клітинах гліобластоми та з'ясувати можливу роль стресу ендоплазматичного ретикулума в їх дії.

5) З'ясувати вплив різних доз карбонових наночастинок на рівень експресії мікроРНК в ембріонах *Danio rerio*.

3. Наукова новизна одержаних результатів. Вперше було встановлено, що у нормальних астроцитах людини лінії NHA/TS під впливом малих доз одностінних карбонових нанотрубок (single-walled carbon nanoparticles – SWCNTs) та оксиду графену спостерігаються виражені зміни рівня експресії різних за своїм функціональним значенням генів. Виявлені зміни в експресії генів були різними для різних генів і залежали від дози наночастинок, що вказує на обумовлене дією нанотрубок та оксиду графену перепрограмування геному за умов активації стресу ендоплазматичного ретикулума. Показано також, що під впливом малих доз SWCNTs змінюється і рівень мікроРНК, а це свідчить про можливість пост-транскрипційної регуляції експресії генів через локалізовані в 3'-нетранслюючих послідовностях мРНК специфічні сайти зв'язування мікроРНК.

Показано також, що експресія мРНК важливих регуляторних факторів у нормальних астроцитах є більш чутливою до дії на них малих доз SWCNTs у порівнянні з клітинами гліобластоми U87MG. Крім того, пригнічення ERN1, основного сигнального шляху стресу ендоплазматичного ретикулума у клітинах гліобластоми майже повністю знімає вплив SWCNTs на експресію генів *DNAJB9* та *BRCA1*.

Встановлено, що тривала експозиція ембріонів *Danio rerio* за присутності одностінних карбонових нанотрубок 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.

4. Теоретичне значення одержаних результатів. Теоретичні положення, сформульовані за результатами проведених досліджень та опрацювання інших теоретичних і практичних даних, розширюють існуючі уявлення про токсичність карбонових наноматеріалів та розкривають механізми дії карбонових наночастинок на геном нормальних астроцитів, на експресію мікроРНК і мРНК важливих регуляторних протеїнів через індукцію стресу

ендоплазматичного ретикулума та вказують на потенційні ризики за умови їх використання у біомедичних цілях.

5. Практичне значення одержаних результатів. Отриманні експериментальні дані можуть бути використані в ході наступних досліджень з метою з'ясування дії карбонових наночастинок, зокрема, таких як SWCNTs і оксид графену, на рівень експресії мРНК та мікроРНК у нормальних та пухлинних клітинах, а також ролі стресу ендоплазматичного ретикулума у відповіді на дію наночастинок. Виявлені зміни в експресії ключових регуляторних генів можуть сприяти виявленню генетичних маркерів метаболічних порушень, у тому числі й патологій розвитку головного мозку і будуть сприяти попередженню негативних наслідків застосування карбонових наночастинок у медико-біологічних цілях.

6. Особистий внесок здобувача. Представлена дисертаційна робота є завершеним науковим дослідженням, яке було здійснене автором відповідно до програми експериментальних досліджень, спланованих і виконаних протягом 2018 –2022 рр. Дисертантом було самостійно здійснено аналіз даних літератури за темою роботи, виконано експериментальні дослідження по вивченню дії малих доз одностінних карбонових нанотрубок та оксиду графену на експресію генів, що приймають участь у регуляції процесів проліферації та виживання клітин, а також експресію мікроРНК у нормальних астроцитах людини та ембріонах *Danio rerio*. Автором було проведено дослідження по виявленню можливої ролі опосередкованого ERN1 стресу ендоплазматичного ретикулума у дії наночастинок на експресію деяких генів, а також здійснено статистичну обробку отриманих результатів та їх узагальнення. Окремі дослідження по визначення рівня експресії певних генів проводилися за участі інж. 1-ї кат. Мирослави Слюсар та інж. 1-ї кат. Юлії Куліш, доктора філософії, н.с. Олени Хіти. Планування роботи, розробка методології, аналіз та обговорення результатів проведено за участі наукового керівника, д.б.н., проф., чл.-кор. НАН України Олександра Мінченка.

7. Публікації результатів роботи, їх обговорення. Основні результати дисертації знайшли відображення у 4-ох друкованих працях, які опубліковані у періодичних наукових виданнях, віднесених до першого-третього квартилів (Q1-Q3) відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank або Journal Citation Report. Аналіз внеску автора у публікації з питань, висвітлених у дисертації, показав, що внесок Рудницької Ольги Володимирівни є вирішальним, зокрема у працях:

1. **Rudnytska O.V.**, Khita O.O., Minchenko D.O., Tsymbal D.O., Yefimova Y.V., Sliusar M.Y., Minchenko O.H. The low doses of SWCNTs affect the expression of proliferation and apoptosis related genes in normal human astrocytes. *Current Research in Toxicology*, 2021, 2: 64–71. doi: 10.1016/j.crttox.2021.02.001 (*Особистий внесок здобувача – дослідження експресії генів CLU, DNAJB9,*

IGFBP3, IGFBP6 і мікроРНК miR-19-3p, miR-27-3p, miR-145-5p, обробка даних та участь у написанні статті). Scopus і PubMed

2. Minchenko OH, Khita OO, **Rudnytska OV**, Yefimova YV, Tsymbal DO, Minchenko DO, Sliusar MY, He Q, Liu K. The impact of single walled carbon nanotubes on the expression of microRNA in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Endocr. Regul.*, 2022 Apr 30; 56(2): 115-125. doi: 10.2478/enr-2022-0013. PMID: 35489050. (*Особистий внесок здобувача – дослідження експресії мікроРНК miR-143-3p, miR-145-5p, miR-182-5p і miR-206-5p, обробка даних та участь у написанні статті). Scopus і PubMed*

3. **Rudnytska OV**, Kulish YV, Khita OO, Minchenko DO, Tsymbal DO, Viletska YM, Sliusar MY, Trufanova DD, Minchenko OH. Exposure to nanographene oxide induces gene expression dysregulation in normal human astrocytes. *Endocr. Regul.*, 2022 Jul 13; 56(3): 216-226. doi: 10.2478/enr-2022-0023. PMID: 35843713. (*Особистий внесок здобувача – дослідження експресії генів BCAR3, BRCA1, NAMPT, TSPAN13 і мікроРНК miR-96-5p, miR-145-5p, обробка даних та участь у написанні статті). Scopus і PubMed*

4. Minchenko D.O., **Rudnytska O.V.**, Khita O.O., Kulish Y.V., Viletska Y.M., Halkin O.V., Danilovskyi S.V., Ratushna O.O., Minchenko O.H. Expression of *DNAJB9* and some other genes is more sensitive to SWCNTs in normal human astrocytes than glioblastoma cells. *Endocr. Regul.*, 2023, 57 (3): 162-172. doi:10.2478/enr-2023-0020 (*Особистий внесок здобувача – дослідження експресії генів BRCA1, CLU і DNAJB8, обробка даних та участь у написанні статті) Scopus і PubMed*

8. Апробація результатів дисертації. Результати досліджень були представлені на міжнародних та вітчизняних конференціях та конгресі: «12-ий Український біохімічний конгрес», Тернопіль, Україна, 2019; «5-та та 6-та Міжнародна наукова конференція “Актуальні проблеми сучасної біохімії, клітинної біології та фізіології”», Дніпро, Україна, 2020, 2022; «V International scientific and practical conference “Modern Science: Innovations and Prospects”», Stockholm, Sweden, 2022; «4th RECOOP International Student Conference and 17th RECOOP Bridges in Life Sciences Conference», Prague, Czech Republic 2022; «Науковій конференції молодих науковців ІБХ “Актуальні проблеми біохімії та біотехнології – 2022”», Київ, Україна, 2022.

9. Інформація щодо проведення біоетичної експертизи дисертаційних досліджень. Дослідження були проведені на культурах клітин нормальних астроцитів людини лінії NHA/TS і гліобластоми лінії U87MG. Нормальні астроцити людини лінії NHA/TS були надані доктором Сасаї спільно з доктором Танака (Лабораторія молекулярної та клітинної патології, Медична школа університету Хоккайдо, Японія). Культура клітин гліобластоми мозку людини лінії U87MG з вектором pcDNA3.1 та домінант-негативною

конструкцією на основі цього вектора, що містила кДНК протеїну ERN1 без кіназного та ендорибонуклеазного доменів (dnERN1) були надані професором М. Моеннер (INSERM U1029 Лабораторія молекулярних механізмів ангиогенезу, Університет Бордо 1, Франція). Робота проводилася з дотриманням принципів біоетики та норм біологічної безпеки відповідно до вказівок та рекомендацій Гельсінської декларації (1975) з доповненнями від 2000 та 2008 років для роботи з використанням людського матеріалу. Це підтверджено експертним рішенням Комісії з біологічної безпеки та біоетики Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України (протокол №2, від 27 вересня 2023 року).

Таким чином, за результатами публічної презентації Ольгою РУДНИЦЬКОЮ наукових результатів дисертації «Вплив карбонових наночастинок на експресію генів, які контролюють проліферацію, у клітинах людини та тварин» та її обговорення на розширеному засіданні професорсько-викладацького складу Випускної кафедри ЗВО Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України та наукового семінару «Актуальні проблеми сучасної біохімії» Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна Національної академії наук України ухвалили:

1. Вважати, що дисертація Ольги РУДНИЦЬКОЇ на тему «Вплив карбонових наночастинок на експресію генів, які контролюють проліферацію, у клітинах людини та тварин» є завершеною науковою працею та відповідає спеціальності 091 «Біологія»

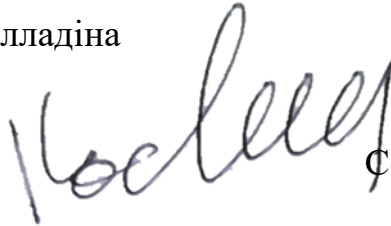
2. Вважати, що дисертація Ольги РУДНИЦЬКОЇ відповідає «Порядку підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії та доктора наук у закладах вищої освіти (наукових установах)», затвердженого постановою №261 Кабінету Міністрів України від 23 березня 2016 року (пп. 25 та 29), та «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» (пп. 6, 7, 8), затвердженого постановою Кабінету Міністрів України №44 від 12 січня 2022 р.

3. Рекомендувати дисертацію Ольги РУДНИЦЬКОЇ на тему «Вплив карбонових наночастинок на експресію генів, які контролюють проліферацію, у

клітинах людини та тварин» до захисту на засіданні разової спеціалізованої вченої ради за спеціальністю 091 «Біологія».

17.10.2023 р.

Головуючий, заступник директора
з наукової роботи
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна
НАН України,
академік НАН України,
д.б.н., професор



Сергій КОСТЕРІН

Завідувач Випускної кафедри
ЗВО Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна
НАН України,
д.б.н., с.н.с.



Лідія БАБІЧ

Секретар засідання, науковий співробітник
відділу молекулярної біології
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна
НАН України
к.б.н.



Юлія ВІЛЕЦЬКА