

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу
Архипової Марини Андріївни

на тему «Вивчення молекулярних механізмів протівірусної активності
флавоноїдів», представлену на здобуття ступеня доктора філософії
в галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія

Актуальність теми дисертації.

Актуальність теми дослідження антивірусних препаратів зумовлена зростанням загрози вірусних інфекцій, включаючи нові віруси та зміни в резистентності існуючих. Розробка ефективних засобів лікування та профілактики різних вірусних інфекцій набуває надзвичайної важливості. Хімічні препарати, що застосовуються в антивірусній терапії, часто мають обмежену ефективність через свою вузькоспецифічність. Тому пошук більш широкого спрямованих антивірусних засобів є актуальною науковою та медичною проблемою.

Особливу увагу заслуговують терапевтичні агенти, які неспецифічно впливають на імунну систему, коригуючи порушення, спричинені різними інфекційними агентами. Такий підхід може стимулювати необхідні реакції для запобігання негативних наслідків інфекції. Отже, пошук антивірусних засобів не обмежується лише препаратами з прямою протівірусною активністю. Навіть за домінуючої концепції створення фармацевтичних препаратів, що спрямовані на конкретні мішені, зростає інтерес до здатності препаратів впливати одночасно на кілька мішеней.

Флавоноїди, природні біологічно активні сполуки, які мають потенційний протівірусний ефект через їхню здатність взаємодіяти з ферментами вірусів та гальмувати їхню реплікацію. Дослідження механізмів цих взаємодій сприяє розробці нових протівірусних препаратів на основі природних сполук. Такий підхід може допомогти зрозуміти молекулярні процеси під час вірусних інфекцій та вказати на нові точки інгібування репродукції вірусів.

Оцінка обґрунтованості наукових результатів дисертації, їх достовірності та новизни.

Дослідницький внесок здобувача полягає в глибокому аналізі та узагальненні сучасного стану розробки протівірусних фітопрепаратів, зокрема флавоноїдвмісних субстанцій, що сприяє подальшому розвитку цієї області.

Проведена робота включає дослідження цитотоксичності флавоноїдвмісної фітокомпозиції, що важливо для оцінки її безпеки та потенційного клінічного використання. Виконані дослідження виявили виражені противірусні властивості фітопрепарату на різних вірусах, включаючи вірус простого герпесу, гепатиту С та папіломи людини, що є новим і важливим внеском у розвиток противірусних засобів.

Дисертація Архипової М.А. розкриває молекулярні механізми противірусної дії фітопрепарату, включаючи вплив на синтез РНК та ДНК, індукцію інтерферонів та апоптоз. Проведений молекулярний докінг для визначення взаємодії флавоноїдних компонентів фітопрепарату з рецепторами вірусів вказує на нові можливості для розвитку противірусних засобів. Було досліджено вплив фітопрепарату на віруссpezifічні механізми патогенезу, що може сприяти розробці ефективних методів боротьби з вірусними інфекціями.

Отже, в дисертаційній роботі поставлені наукові завдання виконано повністю, вони є новими та обґрунтованими, що відповідають актуальності дослідження в галузі противірусної терапії, здобувач повною мірою оволодів методологією наукової діяльності.

Оцінка змісту дисертації, її завершеність та дотримання принципів академічної доброчесності.

За своїм змістом дисертаційна робота здобувача Архипової Марини Андріївни повністю відповідає Стандарту вищої освіти зі спеціальності 091 – Біологія та напрямкам досліджень відповідно до освітньої програми «Прикладна біологія».

Дисертаційна робота є завершеною науковою працею і свідчить про наявність особистого внеску здобувача у науковий напрям «Біологія».

Розглянувши звіт подібності за результатами перевірки дисертаційної роботи на текстові співпадіння, можна зробити висновок, що дисертаційна робота Архипової Марини Андріївни є результатом самостійних досліджень здобувача і не містить елементів фальсифікації, компіляції, фабрикації, плагіату та запозичень. Використані ідеї, результати і тексти інших авторів мають належні посилання на відповідне джерело.

Мова та стиль викладення результатів.

Дисертаційна робота написана українською мовою.

Текст дисертаційної роботи Архипової М.А. відповідає логіці та послідовності, використовується структурований підхід. Викладення інформації є зрозумілим та доступним, без зайвої складнощі або запутаності. Термінологія

пояснюється або використовується в контексті. Стиль мовлення відповідає академічному стандарту для дисертаційної роботи. Він формальний, об'єктивний та науково-дослідницький. Текст містить відому та стандартну термінологію, яка характеризує область досліджень та тему дисертації. Загалом, дисертаційна робота відповідає вимогам наукової публікації та має належний рівень якості інформації та представлення.

Дисертація складається зі вступу, 5 розділів, висновків, списку літератури та додатків. Загальний обсяг дисертації 174 сторінки.

Розділ «Вступ» узагальнює наукову актуальність дослідження, визначає мету та завдання, описує наукову новизну та практичне значення результатів, а також наводить інформацію про апробацію матеріалів та публікації.

У першому розділі представлено широкий аналіз літературних джерел та наукових публікацій, що стосуються ролі флавоноїдів у противірусній дії. Проведено аналіз особливостей дії окремих флавоноїдів та їхніх компонентів, що є важливим для розуміння механізмів їхньої противірусної активності. Також проведено аналіз потенційних мішеней антивірусної дії флавоноїдних препаратів на рівні клітинного метаболізму, таких як роль рецептору епідермального фактора росту в процесі репродукції вірусів та роль фактору транскрипції Nrf2 у вірусних інфекціях. Розглянуто механізми, за допомогою яких, віруси індукують апоптоз (програмовану клітинну смерть) та можливості флавоноїдів впливати на цей процес.

Розділ 2 відзначається докладним описом матеріалів і методів, використаних у дослідженні, і відображається в технічному, науково-технічному стилі. Опис матеріалів (пункт 2.1) та методів (пункт 2.2) проводиться структуровано і лаконічно, враховуючи всі необхідні деталі для розуміння процесу дослідження. Після опису методів (у пункті 2.3) надається інформація про те, які статистичні методи використовувалися для аналізу результатів. Другий розділ викладений в формальному, науковому стилі, що характеризується точністю та чіткістю формулювань, а також відсутністю зайвих деталей.

Розділ 3 «Дослідження антивірусної активності фітопрепарату та його активних флавоноїдних компонентів» представляє собою комплексний аналіз результатів експериментів, спрямованих на вивчення ефективності фітопрепарату у боротьбі з різними вірусами. Підрозділ 3.1 розглядає вплив фітопрепарату на клітини з метою визначення його потенційної цитотоксичності. Далі, у підрозділах 3.2, 3.3, 3.4 та 3.5 розглядаються результати досліджень щодо антивірусної активності фітопрепарату проти різних вірусів, зокрема простого герпесу 1 та 2 типів, коронавірусу трансмісивного гастроентериту свиней, вірусу бичачої вірусної діареї (сурогатного вірусу гепатиту C) та вірусу папіломи

людини. Кожен підрозділ містить результати експериментів, які описані в науковому стилі з використанням спеціалізованої термінології та обґрунтовані науковими даними, що надає доказову базу для висновків щодо ефективності фітопрепарату у боротьбі з вірусними інфекціями.

У четвертому розділі «Механізми противірусної дії фітопрепарату та його активних флавоноїдних компонентів» здобувачем було проведено глибокий аналіз молекулярних механізмів, за якими фітопрепарат та його активні флавоноїдні складові проявляють свою противірусну активність. Підрозділи цього розділу присвячені вивченню впливу фітопрепарату на синтез РНК та ДНК, а також дослідженню його здатності індукції інтерферону та регулюванню апоптозу. Детально розглянуто вплив фітопрепарату на гени вірусу простого герпесу 1 типу та коронавірусу SARS-CoV-2, зокрема за допомогою молекулярного докінгу. Також проведено молекулярно-генетичну індикацію коронавірусу трансмісивного гастроентериту свиней та досліджено вплив фітопрепарату на гени цього коронавірусу. Було проведено молекулярний докінг флавоноїдних компонентів фітопрепарату до сайтів зв'язування гелікази папіломавірусу людини. Вивчено вплив фітопрепарату і його компонентів на експресію генів транскрипційного фактору Nrf2 та рецептора епідермального фактора росту HER-2. В цілому, розділ розкриває науковий аналіз молекулярних механізмів противірусної дії фітопрепарату та його компонентів, підкріпленого експериментальними даними та молекулярно-генетичними дослідженнями.

У розділі 5 «Аналіз та узагальнення результатів» проведено докладний аналіз отриманих даних та висвітлено відповідність поставленим завданням та гіпотезам. Виявлені ключові відмінності і схожості між результатами цього дослідження та попередніми дослідженнями в галузі механізмів антивірусної активності флавоноїдів.

Дисертаційна робота оформлена відповідно до вимог наказу МОН України від 12 січня 2017 р. № 40 «Про затвердження вимог до оформлення дисертації».

Оприлюднення результатів дисертаційної роботи.

Наукові результати дисертації висвітлені у 21 науковій публікації здобувача, серед яких: 4 статті у наукових виданнях, включених на дату опублікування до переліку наукових фахових видань України; 5 статей у періодичних наукових виданнях, проіндексованих у базах даних Web of Science Core Collection та/або Scopus, з яких 1 стаття у виданні, віднесеному до другого квартилю (Q2) відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank або Journal Citation Reports. Також результати дисертації були апробовані на 14 наукових фахових конференціях.

Загальний науковий рівень публікацій Архипової М.А. свідчить про її активну участь у проведенні досліджень з протівірусної активності флавоноїдів. Особистий внесок здобувача підтверджується участю у всіх етапах наукових досліджень, включаючи аналіз літературних джерел, планування та проведення експериментів, обробку отриманих результатів, а також у підготовці статей для фахових видань.

Було проведено біоетичну експертизу дисертаційних досліджень, про що є висновок Комітету з медичної етики та деонтології ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України» № АЕС/25/2021.

Таким чином, наукові результати описані в дисертаційній роботі повністю висвітлені у наукових публікаціях здобувача.

Недоліки та зауваження до дисертаційної роботи.

Оцінка роботи в цілому є позитивною. Однак, незважаючи на високий рівень дисертаційної роботи, маються деякі зауваження і побажання:

1. В огляді літератури досить багато та фундаментально описані такі флавоноїди як лютеолін, трицин, кверцетин, апігенін і лінарин. Проте, вважаю, що для повноти зображення дослідження слід надати докладний опис інших флавоноїдів, що розглядаються у даній роботі: гіперозид, ізорафнетин та рутин.
2. Помилки пунктуації та граматики. Наприклад, на стор. 5-6 зайві коми. Слово «ген» у родовому відмінку буде «гена». На стор. 68 слово «білок» у родовому відмінку в одному абзаці пишеться і як «білку», і як «білка».
3. У анотації написано «Було встановлено інгібуючий вплив фітопрепарату на синтез РНК та ДНК» з подальшою деталізацією «В результаті експерименту було показано, що фітопрепарат блокує синтез РНК *in vitro*. За допомогою обраної для дослідження впливу фітопрепарату на синтез ДНК ПЛР-РЧ системи визначення експресії гена GAPDH з клітинної лінії K562, було встановлено, що фітопрепарат має інгібуючий вплив на експресію гена GAPDH, що свідчить про його здатність впливати на синтез ДНК.». Питання: чи таким чином препарат впливає тільки на певні РНК та ДНК (вибірково), чи взагалі має здатність такого інгібування? Це має бути перевірено, скільки за наявності у препарату РНК- та ДНК-інгібуючої активності він може виявитися генотоксичним.
4. Методика, описана у розділі 2.2.11. Метод інгібування РНК-синтезу в системі транскрипції *in vitro* (РНКП Т7), скоріше є методом **визначення** інгібування, а не інгібування, адже завдання полягало саме у визначенні інгібування активності РНК за використання препаратів.

5. В розділі 3.2.2 найефективнішою на експериментальній моделі генітального герпесу мурчаків була комбінована схема введення фітопрепарату (*per os* + аплікації на інфіковану рану), але не зазначена кількість фітопрепарату при введенні *per os*.

6. В розділі 4.9 Вами були отримані результати щодо впливу фітопрепарату на експресію гена рецептора епідермального фактора росту при інфікуванні клітин Jurkat вірусом простого герпесу 1 типу, а яка взагалі вивченість цього питання для вірусних інфекцій?

7. Чим Ви можете пояснити збільшення (за індексом селективності) протівірусної активності фітопрепарату у формі капсул порівняно з іншою формою, а саме спиртового розчину?

8. У розділі 2.1.1. Препарати на стор. 63 подано інформацію стосовно фітопрепарату, який досліджували. Тут також подано інформацію стосовно хімічного складу «Вміст поліфенолів в перерахунку на пірогалол не менше 0,15 %. Ідентифікацію сполук діючих речовин препаратів здійснювали методом газової хроматографії з мас-спектрометричним детектором. Методом UPLC-PDA визначено домінуючі флавоноїди: кверцетин, апігенін, лінарин, лютеолін, ізорамнетин, катехін»). Разом з тим, у дисертації не наведено ніякої інформації стосовно погодження зразків фітопрепарату виробництва Др. Густав Кляйн ГмбХ & Ко. КГ, Німеччина, (куплено у торговельній мережі, надано виробником тощо). Крім того, на нашу думку, при роботі з комерційним препаратом треба було хоча би провести визначення загального вмісту флавоноїдів. На скільки коректно, на думку дисертанта, визначити причинно-наслідкові зв'язки стосовно відмінностей біоактивності різних форм фітопрепарату, не маючи власних даних стосовно загального вмісту флавоноїдів?

Вважаю, що висловлені зауваження не є визначальними і не зменшують загальну наукову новизну та практичну значимість результатів та не впливають на позитивну оцінку дисертаційної роботи.

Висновок про дисертаційну роботу.

Вважаю, що дисертаційна робота здобувача ступеня доктора філософії Архипової Марини Андріївни на тему «Вивчення молекулярних механізмів протівірусної активності флавоноїдів» виконана на високому науковому рівні, не порушує принципів академічної доброчесності та є закінченим науковим дослідженням, сукупність теоретичних та практичних результатів якого розв'язує наукове завдання, що має істотне значення для біології. Дисертаційна робота за актуальністю, практичною цінністю та науковою новизною повністю відповідає вимогам чинного законодавства України, що передбачені в п. 6 – 9 «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.

Здобувач Архипова Марина Андріївна заслуговує на присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 09 – Біологія за спеціальністю 091 – Біологія.

Рецензент:

Доцент кафедри трансляційної
медичної біоінженерії
КПІ ім. Ігоря Сікорського,
д.б.н., с.н.с.

«20» травня 2024 р.

