

Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0825U000263

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 15-01-2025

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:



II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Жувака Катерина Сергіївна

2. Kateryna S. Zhuvaka

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0001-7096-409X

Вид дисертації: доктор філософії

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 091

Назва наукової спеціальності: Біологія

Галузь / галузі знань: біологія

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: 091 Біологія

Дата захисту: 18-12-2024

Спеціальність за освітою: біологія

Місце роботи здобувача: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 150, Київ, 03143, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): PhD 7141

Повне найменування юридичної особи: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 150, Київ, 03143, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

IV. Відомості про підприємство, установу, організацію, в якій було виконано дисертацію

Повне найменування юридичної особи: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 150, Київ, 03143, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації: Українська

Коди тематичних рубрик: 34.15

Тема дисертації:

1. Дослідження нових нуклеозидних інгібіторів MGMT при алкілувальній хіміотерапії пухлинних клітин в модельних системах
2. The Impact of Novel Non-Nucleoside MGMT Inhibitors on Alkylating Therapy of Cancer Cells in Model Systems

Реферат:

1. Жувака К.С. «Дослідження нових нуклеозидних інгібіторів MGMT при алкілувальній хіміотерапії пухлинних клітин в модельних системах» – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису. Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії у галузі знань 09 Біологія, за спеціальністю 091 Біологія, Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, м. Київ, 2024. Одним із підходів у лікуванні онкозахворювань є алкілувальна хіміотерапія, яка пошкоджує клітинну ДНК, що може призводити до загибелі пухлинних клітин. Однак її ефективність обмежена активацією ферменту MGMT, який усуває алкільні пошкодження, знижуючи цитотоксичну дію препаратів і сприяючи хіміорезистентності. Для подолання цього явища застосовуються інгібітори MGMT, найвідоміші з яких – Об-бензилгуанін (Об-BG) та його похідні. Втім, їхня цитотоксичність і побічні ефекти обмежують клінічне використання, що вимагає

пошуку нових сполук. У дослідженні було протестовано низку ненуклеозидних інгібіторів MGMT, розроблених і синтезованих в ІМБГ НАН України. Відібрано 5 сполук, які демонстрували перспективні результати у попередніх тестах. Цитотоксичність досліджували на клітинах карциноми гортані (HEp-2), де інгібітори показали низьку токсичність у концентрації 10 мкМ, за винятком інгібітора 46, який було виключено з подальших досліджень. Ефективність інгібіторів 41, 41В і 89 оцінювали методом клоногенного аналізу у комбінації з алкілувальною сполукою N-метил-N'-нітро-N-нітросогуанідом (MNNG). Встановлено, що ці інгібітори перевищують ефективність O6-BG, діють у ширшому діапазоні концентрацій і підсилюють цитотоксичний ефект алкілувального агента при його низьких дозах. Методом Вестерн-блот аналізу показано, що нові інгібітори знижують рівень MGMT у клітинах HEp-2 і гліоми T98G, забезпечуючи їхню чутливість до MNNG. Інгібітори демонструють м'який вплив, що триває до 24 годин. Для дослідження впливу нових інгібіторів на деякі ключові клітинні процеси визначали їхній вплив на рівень аутофагії та летальність пухлинних клітин людини в культурі. Отримані результати дали змогу оцінити цитотоксичність і ефективність досліджуваних сполук у пухлинних клітинах, що мають різні рівні експресії гена MGMT. У дослідженні використовували гліомні клітинні лінії: T98G, яка характеризується високим рівнем експресії MGMT, та U251MG, яка має метильований промотор гена MGMT, що передбачає відсутність білка MGMT. Встановлено, що самі по собі нові інгібітори (41 та 41В) не впливають на виживаність гліомних клітин та рівень аутофагії в клітинах обох ліній. Однак, обробка цими інгібіторами клітин лінії T98G підвищує чутливість останніх до алкілувальних сполук. В той же час в клітинах U251MG такі ефекти відсутні. Ці дані вказують на те, що досліджувані сполуки можуть мати терапевтичний ефект при комбінованій алкілувальній хіміотерапії гліом, які мають високий рівень MGMT в ракових клітинах. В експериментах *in vivo* на мишах ICR комбінована терапія з інгібіторами спричинила уповільнення росту пухлин, а іноді – їхню регресію. Інгібітор 89 забезпечив регресію 5 із 6 пухлин, тоді як 41 і 41В продемонстрували менш виражений ефект. Вестерн-блот підтвердив зниження рівня MGMT у пухлинах, що корелювало з регресією пухлин. Це спостереження вказує на потенційне клінічне значення нових інгібіторів для терапії пухлин з високим рівнем MGMT. Побічні ефекти, як-от морфологічні зміни селезінки та некроз тканин, були незначними для інгібітора 89, що робить його найбільш перспективним кандидатом. Аналіз механізмів регресії пухлин виявив активацію каспази 3, що вказує на можливий апоптичний шлях загибелі клітин. Отже, нові ненуклеозидні інгібітори MGMT (41, 41В і 89) продемонстрували обнадійливі результати, підвищуючи ефективність алкілувальної терапії при низьких дозах агентів. Це відкриває нові перспективи для розробки персоналізованих терапевтичних стратегій для лікування онкологічних захворювань.

2. Zhuvaka K.S. «The Impact of Novel Non-Nucleoside MGMT Inhibitors on Alkylating Therapy of Cancer Cells in Model Systems» – A qualification scientific work as a manuscript. The thesis for a scientific degree of Doctor of Philosophy by speciality 091 – Biology (09 – Biology) – Institute of Molecular Biology and Genetics NAS of Ukraine, Kyiv, 2024. One of the approaches to cancer treatment is alkylating chemotherapy, which damages cellular DNA and may lead to tumor cell death. However, its effectiveness is limited by the activation of the MGMT enzyme, which repairs alkylation damage, reducing the cytotoxic effect of drugs and promoting chemoresistance. MGMT inhibitors, the most well-known of which are O6-benzylguanine (O6-BG) and its derivatives, are used to overcome this phenomenon. However, their cytotoxicity and side effects limit their clinical application, necessitating the search for new compounds. This study tested a series of non-nucleoside MGMT inhibitors developed and synthesized at the Institute of Molecular Biology and Genetics of the National Academy of Sciences of Ukraine. Five compounds were selected that showed promising results in preliminary tests. Cytotoxicity was assessed in laryngeal carcinoma cells (HEp-2), where the inhibitors demonstrated low toxicity at a concentration of 10 μM, except for inhibitor 46, which was excluded from further research. The efficacy of inhibitors 41, 41B, and 89 was evaluated using the clonogenic assay in combination with the alkylating agent N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG). It was found that these inhibitors surpassed the effectiveness of O6-BG, acted over a broader concentration range, and enhanced the cytotoxic effect of the alkylating agent at low doses. Western blot analysis demonstrated that the new inhibitors reduced MGMT levels in HEp-2 and T98G glioma cells, increasing their sensitivity to MNNG. The inhibitors showed a mild effect lasting up to 24 hours. To investigate the impact of

the new inhibitors on key cellular processes, their effects on autophagy levels and the lethality of human tumor cells in culture were analyzed. The results allowed for an evaluation of the cytotoxicity and efficacy of the tested compounds in tumor cells with varying MGMT gene expression levels. Glioma cell lines were used: T98G, characterized by high MGMT expression, and U251MG, which has a methylated MGMT promoter, implying an absence of MGMT protein. It was established that the new inhibitors (41 and 41B) alone did not affect the viability of glioma cells or autophagy levels in either cell line. However, treatment of T98G cells with these inhibitors increased their sensitivity to alkylating agents, whereas such effects were absent in U251MG cells. These findings suggest that the investigated compounds may have therapeutic potential in combination alkylating chemotherapy for gliomas with high MGMT levels in cancer cells. In in vivo experiments on ICR mice, combination therapy with the inhibitors slowed tumor growth and, in some cases, caused tumor regression. Inhibitor 89 induced regression in 5 out of 6 tumors, whereas 41 and 41B demonstrated less pronounced effects. Western blot confirmed a decrease in MGMT levels in tumors, correlating with tumor regression. This observation highlights the potential clinical relevance of the new inhibitors for treating tumors with high MGMT levels. Side effects, such as spleen morphological changes and tissue necrosis, were minimal for inhibitor 89, making it the most promising candidate. Analysis of the mechanisms underlying tumor regression revealed caspase-3 activation, indicating a possible apoptotic pathway for cell death. In conclusion, the novel non-nucleoside MGMT inhibitors (41, 41B, and 89) demonstrated encouraging results by enhancing the efficacy of alkylating therapy at low agent doses. This opens new prospects for developing personalized therapeutic strategies for cancer treatment.

Державний реєстраційний номер ДіР:

Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки: Науки про життя, нові технології профілактики та лікування найпоширеніших захворювань

Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності: Впровадження нових технологій та обладнання для якісного медичного обслуговування, лікування, фармацевтики

Підсумки дослідження: Нове вирішення актуального наукового завдання

Публікації:

- Zhuvaka, K. S., Volynets, G. P., Ruban, T. P., Nidoeva, Z. M., Yatsyshyna, A. P., Macewicz, L. L., Bdzhola, V. G., Yarmoluk, S. M., & Lukash, L. L. (2023). Activity of nonnucleoside inhibitors of O6-methylguanine-DNA methyltransferase repair enzyme in human cells in vitro. *Cytology and Genetics*, 57(6), 48-59. <https://doi.org/10.3103/S0095452723060105>
- Zhuvaka, K. S., Piven, O. O., Macewicz, L. L., Ruban, T. P., Volynets, G. P., Yarmoluk, S. M., Dobrzyn, P., Lukash, L. L. (2024). Novel MGMT inhibitors increase the sensitivity of glioma MGMT-positive cells to treatment with alkylating agents in vitro. *Biopolymers and Cell*, 40(1), 47-57. <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000AAD>
- Macewicz, L. L., Zhuvaka, K. S., Papuga, O. Y., Ruban, T. P., Volynets, G. P., Bdzhola, V. G., Yarmoluk, S. M., & Lukash, L. L. (2024). Non-nucleoside O6-methylguanine-DNA methyltransferase inhibitors in murine spontaneous tumor experimental chemotherapy in vivo. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 15(3), 561-566. <https://doi.org/10.15421/022478>

Наукова (науково-технічна) продукція: потенційні препарати для лікування онкозахворювань

Соціально-економічна спрямованість: поліпшення якості життя та здоров'я населення, ефективності діагностики та лікування хворих

Охоронні документи на ОПВ:

Винаходи, корисні моделі, промислові зразки

Volynets, G. P., Ruban, T. P., Yatsyshyna, A. P., Matsevich, L. L., Bdzhola, V. G., Yarmolyuk, S. M., & Lukash, L. L. (2018). RF Patent 127059.

<https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=2.492.48>. 92. Volynets, G. P., Yatsyshina, A. P., Ruban, T. P., Matsevich, L. L., Nidoyeva, Z. M., Balandu, A. O., Bdzhola, V. G., Yarmolyuk, S. M., & Lukash, L. L. (2020). Ukraine Patent 122373.

<https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=271905>.

Впровадження результатів дисертації: Планується до впровадження

Зв'язок з науковими темами: 0119U100158

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Лукаш Любов Леонідівна

2. Lyubov L. Lukash

Кваліфікація: д.б.н., професор, 03.00.22

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0003-4522-1600

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 150, Київ, 03143, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Кашуба Олена Віталіївна

2. Elena V. Kashuba

Кваліфікація: д. б. н., 14.01.07

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0001-7001-4035

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05416946

Місцезнаходження: вул. Васильківська, буд. 45, Київ, 03022, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Сиволоб Андрій Володимирович

2. Andrei V. Sivolob

Кваліфікація: д.б.н., професор, 03.00.02

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-7306-0763

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Код за ЄДРПОУ: 02070944

Місцезнаходження: вул. Володимирська, буд. 60, Київ, 01033, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Рецензенти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Дубей Ігор Ярославович

2. Igor Y. Dubey

Кваліфікація: д. х. н., с.н.с., 02.00.10

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0003-4023-4293

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 150, Київ, 03143, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Телегеев Геннадій Дмитрович

2. Gennadiy D. Telegееv

Кваліфікація: д.б.н., с.н.с., 03.00.03

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0003-0270-4397

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 150, Київ, 03143, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

VIII. Заключні відомості

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові
голови ради**

Філоненко Валерій Вікторович

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові
головуючого на засіданні**

Філоненко Валерій Вікторович

**Відповідальний за підготовку
облікових документів**

Крупська І.В.

Реєстратор

УкрІНТЕІ

**Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є
відповідальним за реєстрацію наукової
діяльності**



Юрченко Тетяна Анатоліївна