

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Т.в.о. директора Інституту біохімії

ім. О.В. Палладіна НАН України

Академік НАН України

Костерін О.С.



2025 р.

ВИСНОВОК

**про наукову повноту, теоретичне та практичне значення результатів
дисертації Корольової Дар'ї Сергіївни
на тему: «Регулювання активності тромбіну в нормі та за патологічних
станів»**

**поданої на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук
за спеціальністю 03.00.04 – біохімія**

Тему дисертаційної роботи «Регулювання активності тромбіну в нормі та за патологічних станів» затверджено на засіданні Вченої ради Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України (протокол № 8 від «12» вересня 2023 року) та змінено на засіданні Вченої ради Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України (протокол № 8 від 13 травня 2025 року).

Науковим консультантом затверджений академік НАН України, д.б.н., Комісаренко С.В.

Структурний підрозділ для проведення попередньої експертизи дисертації та рецензентів затверджено Вченою радою Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України (протокол № 9 від 17 червня 2025 року).

Заслухавши та обговоривши доповідь Корольової Д.С., а також за результатами попередньої експертизи представленої дисертації ухвалили прийняти такий висновок:

Дисертація Корольової Дар'ї Сергіївни на тему: «Регулювання активності тромбіну в нормі та за патологічних станів», подана на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія є цілісною, завершеною науковою працею.

1. Актуальність теми дослідження.

Дисертаційна робота Дар'ї Корольової присвячено комплексному дослідженню біохімічних механізмів регуляції активності тромбіну - ключового ензиму системи гемостазу. Вибір об'єкта дослідження є цілком обґрунтованим, оскільки саме тромбін опосередковує більшість ефекторних ланок зсідання крові, бере участь у запуску утворення фібрину, а також взаємодіє з компонентами імунної системи і каскадними системами запалення. Таким чином, тромбін є ключовим регулятором, який одночасно виступає як маркер, так і потенційна терапевтична мішень при широкому спектрі патологічних станів.

Зв'язок між системами гемостазу та імунітету дедалі частіше привертає увагу сучасних досліджень, є особливо важливим у контексті хронічних інфекцій, постпандемічних ускладнень, системних запальних захворювань і післяопераційних станів. Проблема дисрегуляції системи гемостазу стоїть дуже гостро, оскільки тромботичні ускладнення супроводжують великий спектр патологій, зокрема саме тромбози стали причиною більшості смертей за COVID-19. Тому, як завчасне інгібування внутрішньосудинного тромбоутворення, так і раннє виявлення ризику тромбозу є критично важливими завданнями, реалізація яких дозволяє перейти від лікування наслідків до їх попередження.

В той же час, в умовах сучасних світових військових викликів і бойових дій зростає потреба в розробці нових ефективних засобах зупинки кровотеч. У цьому контексті особливої ваги набуває дослідження, спрямоване як на пригнічення патологічної активності тромбіну, так і на його контрольовану активацію з метою зупинки кровотеч.

Центральну роль у процесах гемостазу відіграє тромбін – ключова серинова протеаза, яка координує каскад реакцій згортання крові, а також модулює запальні й проліферативні процеси. Тромбін, попри свою основну роль як прокоагулянта (активатора зсідання крові), також виконує антикоагулянтні функції – і це одна з найцікавіших сторін його біологічної активності. Таким чином, тромбін відіграє роль своєрідного «гемостатичного модератора»: він не лише стимулює згортання, але й, при певних умовах, пригнічує надмірне згортання, запобігаючи тромботичним ускладненням. Складність і багатогранність дії тромбіну, зокрема його здатність запускати протилежні за напрямом біологічні ефекти, вимагає глибшого розуміння механізмів регуляції його активності як у нормі, так і за умов патологічних станів. Дослідження, присвячене цьому ензиму, мають особливу значущість не лише для поглиблення знань у галузі біохімії, а й для виявлення нових мішеней у профілактиці та терапії тромботичних ускладнень. З огляду на високий тягар серцево-судинних захворювань серед населення у всьому світі та постійний розвиток персоналізованої медицини, обрана тема є надзвичайно актуальною. Вона має міждисциплінарне значення, об'єднуючи досягнення фундаментальної науки з потребами сучасної клінічної практики й біотехнологічних інновацій.

Таким чином, робота Дар'ї Корольової є актуальною і представляє не лише біохімічні аспекти регуляції системи гемостазу, але й біотехнологічні підходи для вирішення проблем, пов'язаних з порушенням роботи цієї системи.

2. Зв'язок з науковими програмами, планами, темами, грантами.

Дисертаційну роботу виконано на базі Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України в рамках проєктів НДР: № 0112U002624 «Механізми регуляції внутрішньоклітинних сигнальних мереж, міжклітинних та міжмолекулярних взаємодій», розділ: «Моделювання системних біологічних процесів та розробка молекулярно-динамічних схем регуляції метаболічних шляхів та міжмолекулярних взаємодій», підрозділ: «Протеом системи гемостазу у перебігу опосередкованих процесів утворення та елімінації згустку» (2012-2016); № 0114U003217 «Вивчення механізму формування фібринового каркасу тромбу та розробка діагностиків стану системи гемостазу при запальних процесах, серцево-судинних захворюваннях та хірургічних втручаннях» (2014-2018); № 0115U005241 «Створення комбінованого перев'язувального засобу для зупинки кровотеч та прискорення загоювання ран» (2015-2016); № 0117U002808 «Впровадження у виробництво гемостатичних губок на основі колагенової матриці та активатора зсідання крові» (2017); № 0118U000453 «Розробка новітніх інгібіторів зсідання крові на основі фармакологічних агентів, що інгібують ензиматичну активність тромбіну та фактору Ха» (2017-2018); № 0117U003558 «Розробка, доклінічні та клінічні дослідження універсального гемостатичного засобу на основі активатора системи зсідання крові та волокнистих вуглецевих сорбентів» (2017-2021); №0117U004344 «Молекулярно-генетичні і біохімічні механізми регуляції клітинних та системних взаємодій за фізіологічних та патологічних станів», розділ «Дослідження системних біологічних процесів за різних патологічних станів, як основа персоніфікованої та регенеративної медицини», підрозділ «Протеїн-протеїнові та протеїн-клітинні взаємодії в системі гемостазу за норми та патології: механізми. Діагностика та корекція порушень» (2017-2021); 0118U002373 «Розроблення тест-системи для одночасного визначення трьох молекулярних маркерів внутрішньосудинного тромбоутворення» (2018-2019); № 0119U000661 «Клінічна апробація та впровадження методу концентрування тромбоцитів аутологічної плазми крові для клітинної терапії» (2019); №0119U001795 «Підготовка та проведення клінічних випробувань композиту адсорбційного гемостатичного аплікаційного «Карбогемостат» (2019); №0122U002158 «Розробка, доклінічні та клінічні випробування аутологічного фібринового гелю для застосування у хірургії» (2022); № 0114U003217 «Вивчення механізму формування фібринового каркасу тромбу та розробка діагностиків стану системи гемостазу при запальних процесах, серцево-судинних захворюваннях та хірургічних втручаннях» (2019-2023); №0123U102770 «Вплив природної і штучної імунізації антигенами SARS-CoV-2 на стан системи гемостазу» (2023-2024); № 0120U103183 «Створення бібліотеки моноклональних антитіл до альфаС-регіону фібриногену з метою вивчення його ролі в полімеризації фібрину та для розробки імунодіагностиків» (2020-2024); ALLEA grant EFDS-FL2-02 provided to the Institution within the framework of Funding Line 2 of the «European Fund for DisplacedScientists» (EFDS), 2022-2023; № 0123U103409 «Створення тест-системи для кількісного визначення протеїну С з метою діагностики загрози внутрішньосудинного тромбоутворення» (2023-2025); № 0124U000251

«Дослідження та пошук способів регуляції молекулярних механізмів внутрішньосудинного та екстрасудинного тромбоутворення» (2024-2028).

3. Наукова новизна дослідження:

Загальний аналіз змісту роботи свідчить про системний, цілісний та самостійний характер дослідження, його високий науковий рівень та новизну.

В роботі представлені дані з розробки нових інгібіторів тромбіну, що можуть бути основою для створення нових антикоагулянтів.

Авторкою запропоновані кровоспинні засоби, які мають унікальний, принципово новий механізм дії, порівняно з існуючими, що забезпечує швидку та ефективну зупинку кровотечі.

Вперше запропоновано і розроблено метод кількісного визначення в плазмі крові претромбіну-1. Створено бібліотеку антитіл до протеїну C, на основі яких створено тест-систему для кількісного визначення протеїну C.

В роботі доведена інформативність комплексної діагностики ризику тромбоутворення, що включає визначення концентрації претромбіну-1, розчинного фібрину, протеїну C у плазмі крові.

Особливу увагу слід звернути на нову концепцію перемикання активності тромбіну залежно від стану ендотелію та субстратного профілю. Хоча принципи регуляції тромбіну є відомими, однак традиційно дослідження їх проводились в модельних системах з використанням очищених протеїнів та штучних мембран. Демонстрація процесу регуляції ензиматичної активності тромбіну в організмі людини з урахуванням клінічних параметрів, яка представлена в роботі, є принципово новим підходом до вивчення біохімічних аспектів роботи системи гемостазу.

За результатами дисертаційного дослідження авторкою сформульовано основні положення, які містять елементи наукової новизни.

4. Теоретичне значення роботи.

У роботі вперше запропоновано сфокусуватись на регуляції активності одного ензиму (тромбіну) для вирішення різноспрямованих завдань: профілактики та прогнозування тромбофілії, а також зупинки кровотеч.

Дослідження розкриває нові аспекти взаємодії тромбіну з природними інгібіторами, кофакторами та клітинними рецепторами, що дозволяє по-новому інтерпретувати процеси згортання крові та їх роль у системній патології.

В роботі вперше запропоновано способи вибору між коагуляцією та антикоагуляцією шляхом прямої дії на (про)тромбін молекулярними ефекторами: інгібіторами активності тромбіну та активаторами протромбіну. Запропоновано парадигму перемикання активності тромбіну за тромбофілії, згідно з якою ензим надає перевагу субстратам (фібриноген, протромбін, протеїн C), відповідно до стану ендотелію судин та концентрації субстрату. Застосування цього принципу дозволило пояснити патогенез змін у системі гемостазу за таких патологій, як COVID-19, системний червоний вовчак, ішемічна хвороба серця, тощо.

5. Практичне значення роботи.

Результати дисертаційної роботи мають суттєве теоретичне значення для поглиблення уявлень про тонкі механізми регуляції системи гемостазу, зокрема,

щодо молекулярної динаміки активності тромбіну в нормальних та патологічних умовах.

Авторкою розроблено нові селективні та специфічні інгібітори тромбіну, доведено їх інгібіторні властивості як в модельних системах *in vitro* та *in vivo*. Це чудовий приклад поєднання комп'ютерного моделювання та класичної біохімії, що вирішує прикладну задачу – розробку потенційних антитромботичних препаратів.

Біохімічні підходи авторка також використовує для обґрунтування та розробки специфічних кровоспинних матеріалів та комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю. Принцип роботи розроблених гемостатиків є принципово новим порівняно з існуючими кровоспинними засобами.

Результати роботи запатентовані, впроваджені в хірургічну, клініко-діагностичну, ветеринарну практику, а розроблений Комплект для одержання фібринового гелю впроваджений у виробництво.

6. Особистий внесок здобувача (зазначається до всіх наукових публікацій, опублікованих із співавторами та захищених за темою докторської дисертації).

Дисертація є самостійною науковою працею, в якій висвітлені власні ідеї і розробки авторки, що дозволили вирішити поставлені завдання. Авторкою створено модельні системи *in vitro* та проведено відповідні дослідження; в співпраці проведено дослідження на модельних *in vivo*; проведено характеристику стану системи гемостазу пацієнтів. У рамках клінічних досліджень, представлених в роботі, авторкою підготовлено пакет документів для їх проведення, отримано дозвіл Державної служби з лікарських засобів та контролю за наркотиками на їх проведення, забезпечено координацію всіх учасників досліджень, включно з монітора, проаналізовано результати досліджень. Робота містить теоретичні та методичні положення і висновки, сформульовані дисертанткою особисто. Використані в дисертації ідеї, положення чи гіпотези інших авторів мають відповідні посилання і використані лише для підкріплення ідей здобувачки.

7. Апробація результатів дослідження.

Результати досліджень було представлено на фахових конференціях:

X Український біохімічний з'їзд; 2010 вересень 13-17; Одеса, Україна;

38th The FEBS Congress; 2013 July 6-11; Saint Petersburg, Russian;

Конференція-конкурс молодих вчених «Актуальні проблеми біохімії та біотехнології–2014»; 2014 квітень 25; Київ, Україна;

16th Annual NATA Symposium. 2015 April 16-17; Prague, Czech Republic;

16th RECOOP Bridges in Life Sciences Video Conference. 2021, April 16;

The Biochemistry Global Summit, 25th IUBMB Congress, 46th FEBS Congress, 15th PABMB Congress, 2022, July 9–14; Lisbon, Portugal;

18th RECOOP Bridges in Life Sciences Conference. 2023, April 20-21; Budapest, Hungary;

19th RECOOP Bridges in Life Sciences. 2024, April 11-12; Bratislava, Slovak Republic;

The 27th IFRS workshop. 2024, June 2-6; Esbjerg, Denmark;

20th RECOOP Bridges in Life Sciences. 2025, April 1-3; Prague, Czech Republic;

24th Annual Symposium on Patient Blood Management, Haemostasis and Thrombosis. 2025, April 24-26; Munich, Germany.

8. Публікації.

За результатами дослідження опубліковано 50 наукових праць: 25 статей у наукових фахових виданнях (16 статей, включених у міжнародні наукометричні бази даних *Scopus* та/або *Web of Science Core Collection*, Q1 – 3 статті, Q2 – 3, Q3 – 3, Q4 – 7), 2 методичних рекомендацій, 13 тез доповідей в збірниках матеріалів конференцій, 10 патентів на винаходи та корисні моделі, які в достатній мірі висвітлюють результати роботи, що виносяться на захист.

9. Список опублікованих праць за темою дисертації

Статті у наукових виданнях, індексованих міжнародними наукометричними базами даних Scopus та Web of Science, SCImago Journal

1. **Korolova DS**, Platonova TM, Gornytyska OV, Chernyshenko V, Korchynskiy O, Komisarenko SV. Diagnostic Value of Protein C Depletion in Pathologies Associated with the Activation of the Blood Coagulation System. *International Journal of Molecular Sciences*. 2025; 26(13):6122. doi:10.3390/ijms26136122. (Q1). *Внесок здобувача: визначення концентрацій розчинного фібрину в плазмі крові пацієнтів, статистичний аналіз стану системи гемостазу пацієнтів.*

2. Platonova TM, Hrabovskyi OO, Chernyshenko VO, Stohnii YM, Kucheryavyi YP, **Korolova DS**, Komisarenko SV. Alternative role of B:bkno-hole interactions in the fibrin assembly. *Biochemistry*. 2025; 64(4): 791-800. doi: 10.1021/acs.biochem.4c00695. (Q1). *Внесок здобувача: аналіз отриманих даних, підготовка матеріалів до друку.*

3. Azizova L, Chernyshenko V, **Korolova D**, Allan IU, Mikhalovsky S, Mikhalovska L. Argatroban-and copper-modified polymers with improved thromboresistance and antimicrobial properties. *Journal of Materials Research*. 2024; 39(16): 2332-2347. doi:10.1557/s43578-024-01389-3. (Q2). *Внесок здобувача: дослідження процесу інгібування тромбіну аргатрабаном в модельних системах in vitro, аналіз результатів.*

4. Udovenko A, Makogonenko Y, **Korolova D**, Chernyshenko V, Komisarenko S. Formation and elimination of soluble fibrin and D-dimer in the bloodstream. *Croatian Medical Journal*. 2023; 64(6): 421-429. doi:10.3325/cmj.2023.64.421. (Q3). *Внесок здобувача: графічне узагальнення представленого матеріалу*

5. **Korolova D**, Gryshchenko V, Chernyshenko T, Platonov O, Hornytyska, O, Chernyshenko V, Klymenko P, Reshetnik Y, Platonova T. Blood coagulation factors and platelet response to drug-induced hepatitis and hepatosis in rats. *Animal models and experimental medicine*. 2023; 6(1): 66–73. doi: 10.1002/ame2.12301 (Q1). *Внесок здобувача: визначення претромбіну-1 в плазмі крові тварин, аналіз стану системи гемостазу тварин.*

6. **Korolova DS**, Platonova TM, Hornytyska OV, Druzhyna NM, Chernyshenko VO. Decrease of prothrombin level thrombolysis in acute myocardium infarction. *Acta Biochimica Polonica*, 2023; 70(4): 991-995. doi: 10.18388/abp.2020_6962 (Q3). *Внесок здобувача: аналіз параметрів системи гемостазу, статистична обробка даних.*

7. Vari SG, Shevchuk O, Boychuk A, Kramar S, Nebesna Z, Yakymchuk Y, Kobylinska L, Chernyshenko V, **Korolova D**, Gaspar-Suranyi A, Altorjay T, Gaspar

R. Common mechanisms of placental dysfunction in preeclampsia, gestational diabetes, and COVID-19 in pregnant women. Ukr. Biochem. J. 2023; 95(3): 5-11. doi: 10.15407/ubj95.03.005 (Q4). *Внесок здобувача: визначення концентрацій розчинного фібрину та D-димеру в плазмі крові пацієнтів, аналіз стану системи гемостазу пацієнтів.*

8. **Korolova DS**, Pavlenko AO, Altorjay A, Zhuk SI, Us IV, Tsaryk Y, Suranyi A, Chernyshenko VO. Validation of the diagnostics algorithm to monitor coagulation parameters in pregnant women. Ukr. Biochem. J. 2023; 95(3): 33-41. doi:10.15407/ubj95.03.033 (Q4). *Внесок здобувача: визначення концентрацій розчинного фібрину та D-димеру в плазмі крові пацієнтів, аналіз стану системи гемостазу пацієнтів.*

9. **Korolova DS**, Hornytska OV, Lavrik AS, Druzhyna NM, Platonova TM. Characterization of blood coagulation system of morbidly obese patients. Ukr. Biochem. J. 2023; 95(4): 3-9. doi: 10.15407/ubj95.04.003 (Q4). *Внесок здобувача: визначення концентрацій розчинного фібрину та D-димеру в плазмі крові пацієнтів, аналіз стану системи гемостазу пацієнтів.*

10. Vari SG, Shevchuk O, Boychuk A, Kramar S, Nebesna Z, Yakymchuk Y, Kobylinska L, Chernyshenko V, **Korolova D**, Gaspar-Suranyi A, Altorjay T, Gaspar R. Placenta lesions during pregnancy in COVID-19 disease, diabetes mellitus, and preeclampsia. Ukr. Biochem. J. 2023; 95 (3): 5-11. doi:10.15407/ubj95.03.005 (Q4). *Внесок здобувача: аналіз параметрів системи гемостазу, статистична обробка даних.*

11. Us IV, Zhuk SI, **Korolova DS**, Platonov OM, Tsaryk YO. Platelet hemostasis in the implementation of placental dysfunction. Reproductive Health of Woman. 2022; 6: 6-12. doi:10.30841/2708-8731.6.2022.267676 (Q4). *Внесок здобувача: планування, аналіз параметрів системи гемостазу, статистична обробка даних.*

12. Kozynets GP, Tsyhankov VP, **Korolova DS**, Gornytska OV, Savchuk OM, Chernyshenko VO, Chernyshenko TM, Platonova TM. The rise of factor X level in blood plasma of patients at severe burn injuries. Journal of Burn Care & Research. 2022; 43 (4): 965-970. doi: 10.1093/jbcr/irab235. (Q2). *Внесок здобувача: аналіз параметрів системи гемостазу, статистична обробка даних.*

13. **Korolova DS**, Stohnii YM, Gryshchuk VI, Zhuk SI, Us IV, Chernyshenko TM, Kostyuchenko OP, Klymenko KP, Platonov OM, Ivashchenko OI, Chernyshenko VO. Thromboelastographic study of fibrin clot and molecular basis of maximum clot firmness. Ukr. Biochem. J. 2021; 93(2): 56-63. doi:10.15407/ubj93.02.062 (Q4). *Внесок здобувача: планування, визначення параметрів системи гемостазу, кореляційний аналіз даних.*

14. Chernyshenko V, Shteinberg K, Lugovska N, Ryzhykova M, Platonova T, **Korolova D**, Lugovskoy E. Preparation of highly-concentrated autologous platelet-rich plasma for biomedical use. Ukr. Biochem. J. 2019; 91(2): 19-27. doi:10.15407/ubj91.02.019 (Q4). *Внесок здобувача: цитометрія зразків збагаченої тромбоцитами плазми крові, розрахунки та графічне представлення умов для отримання збагаченої тромбоцитами плазми крові з підвищеною концентрацією тромбоцитів.*

15. Chernyshenko V, Petruk N, **Korolova D**, Kasatkina L, Gornytska O, Platonova T, Chernyshenko T, Rebriev A, Dzhus O, Garmanchuk L, Lugovskoy E.

Antiplatelet and antiproliferative action of disintegrin from *Echis multisquamatis* snake venom. *Croatian Medical Journal*. 2017; 58(2): 118-127. doi: 10.3325/cmj.2017.58.118 (Q2). *Внесок здобувача: розробка умов очистки цільового ензиму, цитометрія збагаченої тромбоцитами плазми крові та тромбоцитів.*

16. Chernyshenko VO, Chernyshenko TM, **Korolova DS**, Volynets GP, Kolesnikova IN, Platonova TM, Lugovskoy EV. Non-enzymatic activation of prothrombin induced by interaction with fibrin β 26-42 region. *Acta Biochimica Polonica*. 2015; 62(3): 517-522. doi: 10.18388/abp.2014_896 (Q3). *Внесок здобувача: розробка умов визначення тромбінової активності, аналіз даних.*

Статті у фахових виданнях

17. Baidakova KV, Kostuchenko OP, Klymenko KP, Gryshchuk OO, **Korolova DS**. The restoration of hybridoma cells lines after unsuitable storage. *Biotechnologia Acta*. 2024; 17(2): 14-17. doi:10.15407/biotech17.02.014. *Внесок здобувача: планування, робота з гібридомами.*

18. **Korolova D**, Syrko M, Stohnii Ye, Druzhyna N, Chernyshenko T, Gogolinska G. Standardization of the protein calibrators isolation methodology for thrombophilia markers detecting immunodiagnostic test systems. *Biotechnologia Acta*, 2022; 15(6): 61-69. doi:10.15407/biotech15.06.061&. *Внесок здобувача: напрацювання моноклональних антитіл та їх використання в тест системах.*

19. Chernyshenko V, **Korolova D**, Verevka S. Allosteric regulation of the blood clotting cascade. *Grail of Science*. 2022; 18-19: 106-111. doi:10.36074/grail-of-science.26.08.2022.17. *Внесок здобувача: аналіз та узагальнення даних літератури.*

20. **Korolova DS**, Hornytska OV, Deyev VA, Gryshchuk VI, Chernyshenko TM, Platonova TM, Chernyshenko VO. Optimization of the evaluation method of the performance of therapy using indirect action anticoagulants. *Biotechnologia Acta*. 2022; 15(3): 52-57. doi:10.15407/biotech15.03.052. *Внесок здобувача: розробка методу визначення концентрації претромбіну-1, аналіз та статистична обробка даних.*

21. **Korolova D**, Shevchuk O, Kostuchenko O, Chernyshenko T, Klymenko K, Platonova T, Ivankiv Ya, Pali S, Pak A, Chernyshenko V, Korda M, Komisarenko S, Vari S. Hematological Findings in Post-COVID-19 Recovery Period: Three-Month Follow-Up Study. Available at SSRN: <https://ssrn.com/abstract=4234239>. doi: 10.2139/ssrn.4234239. *Внесок здобувача: концентрацій розчиного фібрину та D-димеру в плазмі крові пацієнтів, аналіз стану системи гемостазу пацієнтів.*

22. **Korolova D**. Regulation and Dysregulation of Thrombin Activity. *Southeastern European Medical Journal: SEEMEDJ*. 2021; 5(1): 47-64. doi:10.26332/seemedj.v5i1.194. *Внесок здобувача: аналіз та узагальнення даних літератури, графічне представлення узагальнених даних.*

23. **Korolova D**, Chernyshenko V, Platonova T, Chernyshenko T, Lugovskoy E. Detection of prethrombin 1 in human blood plasma. *International blood research and reviews*. 2016; 5(2): 1-7. doi:10.9734/IBRR/2016/24683. *Внесок здобувача: планування, розробка умов визначення претромбіну-1 в плазмі крові, модифікація інгібіторно-кореляційної проби для диференціювання декарбоксильованого протромбіну та претромбіну-1, аналіз даних.*

24. **Korolova DS**, Chernyshenko TM, Gornytska OV, Chernyshenko VO, Platonova TN. Meizothrombin preparation and its role in fibrin formation and platelet aggregation. *Advances in Bioscience and Biotechnology*. 2014; 5: 588-595. doi:10.4236/abb.2014.57069. *Внесок здобувача: розробка умов отримання мезотромбіну, агрегатометрія, аналіз даних.*

Методичні рекомендації.

25. Комісаренко СВ, Деєв ВА, Луговської ЕВ, Колеснікова ІМ, Платонова ТМ, Луговська НЕ, Костюченко ОП, Чернишенко ВО, **Корольова ДС**, Чернишенко ТМ, Ліксунов ОВ, Каширова ОВ, Романова ЕЕ. Застосування імуноензимних методів для лабораторної діагностики загрози внутрішньосудинного тромбоутворення. К.: Видавець Бихун В.Ю., 2019. 36с. ISBN 978-617-7699-02-5. *Внесок здобувача: визначення концентрацій розчинного фібрину та D-димеру в плазмі крові пацієнтів, аналіз стану системи гемостазу пацієнтів, графічне узагальнення результатів.*

26. Комісаренко СВ, Корда ММ, Варі ШГ, Платонова ТМ, **Корольова ДС**, Чернишенко ВО, Шевчук ОО, Войтович АІ, Яценко ТА, Романюк СІ. Визначення загрози внутрішньосудинного тромбоутворення у пацієнтів, які перехворіли на COVID-19: методичні рекомендації. Тернопіль: ТНМУ, 2024. 40с. *Внесок здобувача: планування, визначення концентрацій розчинного фібрину та D-димеру в плазмі крові пацієнтів, аналіз стану системи гемостазу пацієнтів, графічне узагальнення результатів.*

Опубліковані праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

27. **Корольова ДС**, Платонова ТМ, Чернишенко ТМ, Томчук ВА, Грищенко ВА, Литвиненко ОМ. Визначення функціонально неактивних форм протромбіну за умов медикаментозного гепатиту. У: Матеріали Х Українського біохімічного з'їзду; 2010 вересень 13-17; Одеса, Україна. Укр. біохім. журн. 2010. 4 (додаток 2). 2010. С. 30.

28. **Корольова ДС**, Платонова ТМ, Горницька ОВ. Роль похідних протромбіну в формуванні тромбоцитарного та фібринового тромбу. У: Матеріали Х Українського біохімічного з'їзду; 2010 вересень 13-17; Одеса, Україна. Укр. біохім. журн. 2010. 4 (додаток 2). 2010. С. 30.

29. **Korolova DS**, Chernyshenko TM, Gornitskaia OV, Platonova TN. The role of meizothrombin and prethrombin-1 in fibrin formation and platelet aggregation. In: 38th The FEBS Congress; 2013 July 6-11; Saint Petersburg, russia; FEBS Journal. 280 (Suppl. 1); 2013. p. 487-488.

30. **Корольова ДС**, Чернишенко ВО, Чернишенко ТМ, Платонова ТМ, Чернишенко ВО. Виявлення претромбіну 1 in vivo та його роль у процесі зсідання крові. У: Конференція-конкурс молодих вчених «Актуальні проблеми біохімії та біотехнології–2014»; 2014 квітень 25; Київ, Україна; Укр. біохім. журн. 2014. 5 (додаток 1). 2014. p. 59.

31. Platonova TM, **Korolova DS**, Chernyshenko VO, Chernyshenko TM, Parkhomenko O. Dramatic decrease of prothrombin level during thrombolysis in acute myocardium infarction. In: 16th Annual NATA Symposium. 2015 April 16-17; Prague, Czech Republic. 2015. P. 98.

32. **Korolova DS**, Kostiuhenko OP, Shevchuk OO, Chernyshenko TM,

Klymenko KP, Platonova TM, Ivankiv YaI, Paliy SM, Pak AI, Chernyshenko VO, Korda MM, Vari SG. Blood coagulation parameters in patients after COVID-19. In: 16th RECOOP Bridges in Life Sciences Video Conference. 2021 April 16. 2021. p.21-22.

33. Tsaryk Y, Shevchuk O, **Korolova D**, Chernyshenko T, Kostiuchenko O, Klymenko K, Chernyshenko V, Platonova T. Rational diagnostics of thrombophilia in risk groups during immunization by AstraZeneca anti SARS-CoV-2 vaccine. In: The Biochemistry Global Summit, 25th IUBMB Congress, 46th FEBS Congress, 15th PABMB Congress, 2022 July 9–14; Lisbon, Portugal. 2022. FEBS Open Bio. 2022. 12. p. 146.

34. **Korolova DS**, Snezhkova EA, Shevchuk OO, Chernyshenko VO, Korda MM, Vari SG. Prethrombin-1 formation in blood plasma as a common mechanism in pathogenesis of diseases associated with prethrombotic state. In: 18th RECOOP Bridges in Life Sciences Conference. 2023 April 20-21; Budapest, Hungary. 2023. P. 58.

35. **Korolova DS**, Platonova TM, Gornytska OV, Chernyshenko VO. Clinical value of protein C determination in pathologies associated with the activation of blood coagulation system. In: 19th RECOOP Bridges in Life Sciences. 2024 April 11-12; Bratislava, Slovak Republic. 2024. p. 21-22.

36. **Korolova DS**, Baidakova KV, Komisarenko SV. Catalog of monoclonal antibodies for the study of fibrin(ogen) structure and functions. In: The 27th IFRS workshop. 2024 June 2-6; Esbjerg, Denmark. 2024. p. 33-34.

37. **Korolova, DS**, Kostiuchenko OP, Platonova TM, Chernyshenko VO. Monoclonal antibodies for protein c detection in blood plasma. In: 20th RECOOP Bridges in Life Sciences. 2025 April 1-3; Prague, Czech Republic. 2025. p. 73.

38. Pavlenko A, Suranyi A, Altorjay A, **Korolova D**, Chernyshenko V, Zhuk S, Us I, Varbiro Sz, Vari SG. Obesity and thrombotic risk in pregnant women. In: 20th RECOOP Bridges in Life Sciences. 2025 April 1-3; Prague, Czech Republic. 2025. p.43.

39. **Korolova D**, Demchynska R, Chernyshenko T, Kostiuchenko O, Chernyshenko V. Impact of war-related acoustic and thermal trauma on the blood coagulation system. In: 24th Annual Symposium on Patient Blood Management, Haemostasis and Thrombosis. 2025 April 24-26; Munich, Germany. 2025. p.24-25.

Патенти

40. **Корольова Д.С.**, Чернищенко Т.М., Платонова Т.М., Волков Г.Л., Деев В.А., Куповська С.І. Тест-система та спосіб контролю ефективності лікування та профілактики тромбозів антикоагулянтами непрямої дії: пат. 86856 України: МПК G01N 33/50 A61B 5/00. № a200708173; заявл. 18.07.2007; опубл. 25.05.2009, Бюл. №10. 5 с.

41. Платонова Т.М., **Корольова Д.С.**, Чернищенко Т.М., Горницька О.В., Гришук В.І., Чернищенко В.О., Луговської Е.В., Комісаренко С.В. Спосіб отримання тромбіну: пат. 90935 України: МПК C12N 9/74. № u201401076; заявл. 05.02.2014; опубл. 10.06.2014, Бюл. №11. 7 с.

42. Комісаренко С.В., Луговської Е.В., Рубленко М.В., Андрієць В.Г., **Корольова Д.С.**, Чернищенко В.О., Чернищенко Т.М., Горницька О.В., Платонова Т.М., Макогоненко Є.М. Спосіб одержання аутологічного

фібринового гелю для стимуляції регенерації кісткових та м'яких тканин і зниження інтенсивності запальних процесів: пат. 113094 України: МПК А61Р19/00, А61Р31/00, А61К35/14, А61К35/16. № а201501207; заявл. 13.02.2015; опубл. 25.08.2016, Бюл. № 16. 11 с.

43. Комісаренко С.В., Луговської Е.В., Ніколаєв В.Г., Платонова Т.М., Досенко В.Є., Сахно Л.О., Снежкова Є.О., Чернишенко Т.М., **Корольова Д.С.**, Чернишенко В.О., Горницька О.В., Коротич В.Г. Гемостатичний комбінований засіб для припинення масивних кровотеч, у тому числі за гемофілії: пат. 114356 України: А61F13/00, А61К38/43, А61Р7/04. № u201608441; заявл. 01.08.2016; опубл. 10.03.2017, Бюл. №5. 12 с.

44. Комісаренко С.В., Луговської Е.В., Ніколаєв В.Г., Платонова Т.М., Досенко В.Є., Сахно Л.О., Снежкова Є.О., Чернишенко Т.М., **Корольова Д.С.**, Чернишенко В.О., Горницька О.В., Коротич В.Г. Гемостатичний комбінований засіб для припинення масивних кровотеч, у тому числі за гемофілії: пат. 117852 України: А61F13/00, А61К38/43, А61Р7/04. № а201608443; заявл. 01.08.2016; опубл. 10.10.2018, Бюл. № 19. 11 с.

45. Луговської Е.В., Чернишенко В.О., **Корольова Д.С.**, Штайнберг К.М. Спосіб одержання аутологічної, збагаченої тромбоцитами, плазми крові людини з вмістом тромбоцитів понад 1 млн/мкл для медичного застосування: пат. 123108 України: А61К35/19, А61Р7/00. № а201810476; заявл. 24.10.2018; опубл. 27.04.2020, бюл. № 8. 9 с.

46. Комісаренко С.В., Платонова Т.М., Чернишенко В.О., **Корольова Д.С.**, Чернишенко Т.М., Горницька О.В., Луговська Н.Е., Ніколаєв В.Г., Сахно Л.О., Снежкова Є.О., Васюта О.Е., Гаврецький А.І., Жмінько П.Г. Спосіб надання біоматеріалам прокоагулянтних властивостей шляхом модифікації їхньої поверхні екзогенним активатором протромбіну екамуліном: пат. 149443 України: А61К38/36, А61Р7/04, А61L15/32. № u202103676; заявл. 25.06.2021; опубл. 18.11.2021, бюл. № 46. 14 с.

47. Komisarenko S.V., Nikolaev V.H., Platonova T.M., Dosenko V.Ye., Sakhno L.O., Snezhkova E.O., Chernyshenko T.M., **Korolova D.S.**, Chernyshenko V.O., Hornytska O.V., Korotych V.H. The method of production of a haemostatic agent and a haemostatic agent for major bleeding control: Patent WO-2021194461-A1 WIPO (PCT): A61F 13/01008, A61F 2013/00463, A61K 38/4806, A61L 15/44, A61L 2300/40, A61L 2300/418, A61L 2400/04, A61P 7/04. №. PCT/UA2021/000031; int. filing date 29.03.2021; publ. date 30.09.2021, <https://patents.google.com/patent/WO2021194461A1>. 38 p.

48. Комісаренко С.В., Платонова Т.М., Чернишенко В.О., **Корольова Д.С.**, Чернишенко Т.М., Горницька О.В., Луговська Н.Е., Ніколаєв В.Г., Сахно Л.О., Снежкова Є.О., Васюта О.С., Гаврецький А.І., Жмінько П.Г. Спосіб надання біоматеріалам прокоагулянтних властивостей шляхом модифікації їхньої поверхні екзогенним активатором протромбіну екамуліном: пат. 128188 України: А61L15/32, А61К38/36, А61Р7/04. № а202100475; заявл. 08.02.2021; опубл. 01.05.2024, бюл. № 18. 13 с.

49. Комісаренко С.В., Ніколаєв В.Г., Платонова Т.М., Досенко В.Є., Сахно Л.О., Снежкова Л.О., Чернишенко Т.М., **Корольова Д.С.**, Чернишенко В.О., Горницька О.В., Коротич В.Г. Спосіб виготовлення гемостатичного засобу і гемостатичний засіб для припинення масивних кровотеч: пат. 128691 України:

A61F13/02, A61K38/43, A61L15/38, A61P7/04. № a202003758; заявл. 22.06.2020; опубл. 02.10.2024, бюл. № 40. 17 с.

10. Оцінка мови та стилю дисертації.

Дисертація виконана фаховою українською мовою, текстове подання матеріалу відповідає стилю науково-дослідної літератури.

11. Відповідність принципам академічної доброчесності.

Дисертаційна робота на тему «Регулювання активності тромбіну в нормі та за патологічних станів» відповідає принципам академічної доброчесності. Використані в докторській дисертації та наукових публікаціях, у яких висвітлені основні наукові результати дисертації, наукові тексти, ідеї, розробки, наукові результати й матеріали інших авторів, супроводжуються посиланням на авторів та/або на джерело опублікування.

12. Відповідність нормам біоетики та біологічної безпеки.

Робота була проведена з дотриманням вимог норм біоетики, біологічної безпеки згідно «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» № 3447-IV (Україна, 2001), які узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) та вимог норм біоетики, біологічної безпеки згідно Гельсінської декларації (1975) з доповненнями від 2000 та 2008 років для роботи з використанням людського матеріалу. Експерименти проводили у відповідності до правил комісії з питань біоетики Інституту біохімії НАН України (протокол № 5 від 14 травня 2025 року засідання Комісії з біологічної безпеки та біоетики Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України).

13. Відповідність змісту дисертації спеціальності, з якої вона подається до захисту. Дисертаційне дослідження на тему «Регулювання активності тромбіну в нормі та за патологічних станів» відповідає паспортам спеціальності 03.00.04 – біохімія та 03.00.20. – біотехнологія.

ВИСНОВОК

Дисертація виконана Корольовою Дар'єю Сергіївною на тему «Регулювання активності тромбіну в нормі та за патологічних станів» є завершеним науково-дослідним дослідженням. Отримані результати є нові і оригінальні та мають науково-теоретичну і практичну цінність. Зміст дисертації відповідає визначеній меті, поставлені здобувачем наукові завдання вирішені повністю, мети дослідження досягнуто. Основні положення дисертації, задекларовані здобувачем, містять наукову новизну. Структура й обсяг роботи відповідають встановленим вимогам. Наукові положення, висновки та підходи повністю обґрунтовані та аргументовані, містять наукову новизну та отримали необхідну апробацію на наукових конференціях. У публікаціях здобувача відображені всі положення дисертації. Викладене дозволяє зробити висновок

про те, що дисертаційне дослідження Корольової Дар'ї Сергіївни на тему «Регулювання активності тромбіну в нормі та за патологічних станів» відповідає всім вимогам п. 7, 8, 9 «Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 17.11.2021 року №1197, які висуваються до докторських дисертацій, і рекомендується до захисту на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук зі спеціальностей 03.00.04 – біохімія та 03.00.20. – біотехнологія.

Результати дисертаційного дослідження Корольової Дар'ї Сергіївни на тему: «Регулювання активності тромбіну в нормі та за патологічних станів» та представлених публікацій, обговорено і схвалено на розширеному засіданні відділу структури і функції білка Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України (протокол № від 8 липня 2025 р.).

Головуючий на засіданні –

Заступник директора з наукової роботи
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна
Національної академії наук України
Академік НАН України
д.б.н., професор



Сергій КОСТЕРІН

Рецензент -

Головний науковий співробітник
відділу молекулярної імунології
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна
Національної академії наук України
член-кореспондент НАН України,
д.б.н., професор



Денис КОЛИБО

Рецензент -

Завідувачка відділу нейрохімії
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна
Національної академії наук України
д.б.н., професор



Тетяна БОРИСОВА

Рецензент -

Завідувач відділу хімії та біохімії ферментів
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна
Національної академії наук України,
д.б.н., старший науковий співробітник



Артем ТИХОМИРОВ

Секретар



Ольга ГОРНИЦЬКА