

Рішення
разової спеціалізованої вченої ради
про присудження ступеня доктора філософії

Здобувач ступеня доктора філософії Євгеній КУЧЕРЯВИЙ, 1997 року народження, громадянин України, освіта вища: закінчив у 2021 році Навчально-науковий центр "Інститут біології та медицини" Київського національного університету імені Тараса Шевченка за спеціальністю «Біологія», працює інженером I категорії (50%) у відділі, структури та функції білка Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, м. Київ, виконав акредитовану освітньо-наукову програму підготовки докторів філософії в аспірантурі Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України за спеціальністю 091 Біологія.

Разова спеціалізована вчена рада, утворена наказом Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, м. Київ від «18» червня 2025 року № 13-а, у складі:

Голови разової

спеціалізованої вченої ради

– Сергія КОСТЕРІНА, доктора біологічних наук, (спеціальність 03.00.04 «Біохімія»), професора, академіка НАН України, заступника директора з наукової роботи, завідувача відділу біохімії м'язів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України;

Рецензентів

– Євгена МАКОГОНЕНКА, доктора біологічних наук (спеціальність 03.00.04 «Біохімія»), професора, головного наукового співробітника відділу структури та функції білка Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України;

– Олени ЮСОВОЇ, кандидата біологічних наук (спеціальність 03.00.04 «Біохімія»), старшого наукового співробітника, старшого наукового співробітника відділу хімії і біохімії ферментів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України;

Офіційних опонентів

– Олександра КОРНЕЛЮКА, доктора біологічних наук (спеціальність 03.00.03 «Молекулярна біологія»), професора, член-кореспондента НАН України, завідувача відділу білкової інженерії та біоінформатики Інституту молекулярної біології і генетики НАН України;

– Тетяни ГАЛЕНОВОЇ, кандидата біологічних наук (спеціальність 03.00.04 «Біохімія»), старшого дослідника, доцента кафедри біохімії

Київського національного університету імені
Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології та
медицини»;

на засіданні «14» серпня 2025 року прийняла рішення про присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» Євгенію КУЧЕРЯВОМУ на підставі публічного захисту дисертації «Дослідження структури та функцій α C-регіонів та B β N-доменів фібрин(оген)у за допомогою молекулярних ефекторів» за спеціальністю 091 «Біологія».

Дисертацію виконано в Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, м. Київ.

Науковий керівник Володимир ЧЕРНИШЕНКО, д.б.н., старший дослідник, завідувач відділу структури та функції білка, заступник директора з наукової роботи Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України.

Дисертацію подано у вигляді спеціально підготовленого рукопису українською мовою, який за змістом, рівнем наукової новизни, теоретичним та практичним значенням результаті та кількістю публікацій відповідає вимогам наведеним у пункті 6 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 року № 44 (зі змінами).

Дисертаційна робота Євгенія КУЧЕРЯВОГО є самостійним і комплексним науковим дослідженням, виконаним у повній відповідності до принципів академічної доброчесності. У ній відсутні випадки плагіату, повторного використання власних матеріалів без посилання, а також підробки чи фальсифікації даних. Усі результати отримані особисто автором; у випадках наукової співпраці належним чином зазначено джерела та публікації з участю співавторів. Висновки та наукові положення роботи ґрунтуються на ретельному опрацюванні сучасної української та міжнародної наукової літератури.

Експериментальна частина виконана із застосуванням загальноприйнятих методів біохімії та молекулярної біології. Подані в дисертації результати, а також опубліковані у наукових статтях, є власним науковим здобутком автора та становлять його особистий внесок у розвиток науки.

Отримані результати мають суттєве наукове, практичне та теоретичне значення в галузі знань «Біологія», оскільки вони розкривають молекулярні механізми регуляції ключових етапів тромбоутворення – полімеризації фібрину та агрегації тромбоцитів. Проведене дослідження спрямоване на вирішення актуальної наукової проблеми, пов'язаної з можливістю селективної модуляції цих процесів для запобігання патологічному внутрішньосудинному тромбогенезу при збереженні або стимуляції фізіологічного екстрасудинного гемостазу.

У роботі вперше комплексно досліджено функції окремих структурно-функціональних доменів фібрин(оген)у, а саме α C-регіону та B β N-домену, із застосуванням молекулярних ефекторів різної природи та механізму дії. Порівняльний аналіз впливу протеолітичного відщеплення, специфічного

блокування антитілами та конкурентного зв'язування пептидами дозволив уточнити роль активних сайтів, локалізованих у межах зазначених регіонів, у регуляції фібринопоезу та тромбоцитарних взаємодій.

Отримані результати поглиблюють існуючі уявлення про структурно-функціональну організацію фібрин(оген)у та його участь у формуванні фібриново-тромбоцитарного згустку, відкриваючи перспективи для створення нових підходів до профілактики й лікування тромбоутворення.

Здобувач має 7 наукових публікацій за темою дисертації, з них 3 опубліковані в іноземних фахових виданнях, 2 мають індекс Q1 та Q3

1. Platonova T.M., Hrabovskyi O.O., Chernyshenko V.O., Stohnii Y.M., **Kucheryavyi Y.P.**, Korolova D.S., Komisarenko S.V. (2025). Alternative role of B:b knob-hole interactions in the fibrin assembly. *Biochemistry* 2025, 64, 4, 791-800. <https://10.1021/acs.biochem.4c00695> (Q1).
2. **Kucheriavyi, Y.P.**, Panas, I.D. (2023). Transmission electron microscopy for the direct analysis of fibrin clot structure. *Biotechnologia Acta*, 16(2), 30-31. <https://10.15407/biotech16.02.030>
3. Stohnii, Y.M., Yatsenko, T.A., Nikulina, V.V., **Kucheriavyi, Y.P.**, Hrabovskyi, O.O., Slominskyi, O.Y., Savchenko, K.S., Garmanchuk, L.V., Varbanets, L.D., Tykhomyrov, A.O., Chernyshenko, V.O. (2023). Functional properties of individual sub-domains of the fibrin(ogen) α C-domains. *BBA advances*, 1867(3), 100072. <https://doi.org/10.1016/j.bbadv.2023.100072> (Q3).
4. Zhelavskyi, M.A., Platonov, O.M, **Kucheryavyi, Y.P.**, Stohnii, Y.M. (2023). Aprobaton of platelet aggregation inhibitor from *Echis multisquamatis* snake venom in vitro, in vivo and ex vivo. *Biotechnologia Acta*, 16(5). <https://doi.org/10.15407/biotech16.05>
5. **Kucheriavyi Y.**, Hrabovskyi O., Rebriev A.V., Stohnii Y. Limited proteolysis of fibrinogen α C-region reveals its structure. *Biotechnologia Acta* T. 15, No. 2, 2022. P. 60-61. <https://doi.org/10.15407/biotech15.02.060>
6. Iskandarov E., Zinenko O., Tupikov A., Pitishkina A., Platonov O., Gryshchuk V., **Kucheriavyi Y.**, Stohnii Y. (2022) Action of venom of *Vipera* snake of Ukraine on blood coagulation in vitro. *Biotechnologia Acta*. 15(2):56-57. <https://doi.org/10.15407/biotech15.02.056>
7. Iskandarov E., Gryshchuk V., Platonov O., **Kucheriavyi Y.**, Slominskyi O., Stohnii Y., Vartanov V., Chernyshenko V. Fractionation of *Vipera berus berus* snake venom and detection of bioactive compounds targeted to blood coagulation system. *Southeastern European Medical Journal*. 6 (2022) 20-31. <https://doi.org/10.26332/seemedj.v6i2.256>

У дискусії взяли участь голова, рецензенти, офіційні опоненти, інші присутні та висловили зауваження:

Сергій КОСТЕРІН, доктор біологічних наук, професор, академік НАН України: без зауважень.

Євген МАКОГОНЕНКО, доктор біологічних наук, професор, головний

науковий співробітник відділу структури і функції білка Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, надав позитивну рецензію, із зауваженнями і запитаннями:

1. Одним із важливих дискусійних питань є твердження автора про те, що центр полімеризації «С», розташований в межах В β N-домену, працює лише у комплексі з α С-регіоном. З цим категоричним твердженням не можна погодитися в повній мірі, оскільки, по-перше тому, що Х-фрагмент фібриногену, отриманий за допомогою плазміну, який не має α С-регіонів, але містить неущкожені два В β N-домени з «С» сайтами, здатен полімеризуватися.

2. Здатність дезА α 404-610 фібриногену, який не має α С-регіонів, полімеризуватися під дією тромбіну може вказувати на інший шлях залучення В β N-домену у взаємодію С – с сайтів полімеризації. Після відщеплення фібринопептидів А і взаємодії А-а сайтів полімеризації Е і D регіони зближаються, що є першим кроком до формування DDE тріади. Рухливість В β N-домену в просторі між Е і DD регіонами обмежується, тому зв'язування С сайту В β N-домену з с сайтом полімеризації D-регіону уповільнюється і уповільнюється формуванням DDE тріади. За наявності В β N-домен - α С-регіон комплексів швидкість встановлення контакту С-с сайтів полімеризації підтримується на високому рівні. В цьому і може полягати головна роль В β N-домену - α С-регіон комплексу в процесі формування DDE тріади – базової структури фібринового згустку.

Питання 1: Цікаво з'ясувати, чому В β N(1-42) фрагмент В β N-домену не впливає на полімеризацію контрольного фібриногену. Можливо, після вичленення В β N(1-42) фрагменту із структури В β N-термінального 1-65 фрагменту і втрати зв'язку з α С-регіоном він змінює конформацію, завдяки взаємодії В β 21-23 та В β 41-42 позитивно заряджених кластерів з негативно зарядженим фібринопептидом В ?

Питання 2: Важливим питанням у дослідженнях є симетрія молекули фібриногену і фібрину. Чи є у Вас докази того, що ефектори в першу чергу протеїназні і пептиди в однаковій однаковій мірі діють на обидві половини молекул фібриногену і фібрину?

Олена ЮСОВА, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, старший науковий співробітник відділу хімії та біохімії ферментів Інституту біохімії ім.О.В.Палладіна НАНУ, надала позитивну рецензію, із зауваженнями:

1. Бажано в огляді літератури зробити більш детальний опис центрів полімеризації фібрину.

2. Необхідно конкретизувати деякі з загальних висновків.

3. Необхідно відредагувати вступну частину дисертації, в якій зустрічаються невдало складені речення, в яких відсутня узгодженість відмінків.

4. Необхідно конкретизувати підписи деяких представлених графіків та фотографій.

Олександр КОРНЕЛЮК, доктор біологічних наук, професор, член-кореспондент НАН України, завідувач відділу білкової інженерії та біоінформатики Інституту молекулярної біології і генетики НАН України, надав

позитивний відгук, із зауваженнями і запитаннями:

1. Занадто прості формулювання назв розділів, що не передає суть його змісту при ознайомленні.

2. Недостатній рівень літературного аналізу. У дискусії деяких підрозділів відсутнє порівняння отриманих результатів з даними інших дослідників. Крім того, опис результатів не містить посилань на подібні або протилежні дослідження. Включення таких порівнянь допомогло б глибше інтегрувати висновки в науковий контекст і підвищити їх обґрунтованість.

3. В окремих розділах опису результатів варто було б більш докладно зазначити експериментальні умови (концентрації ефекторів, кількість повторів, морфометричні параметри), що сприяло б кращій відтворюваності досліджень. Зокрема, у експериментах із впливом антитіл на агрегацію тромбоцитів слід вказувати саме кінцеві концентрації, а не об'єми внесених розчинів (наприклад, 0,025 мл чи 0,05 мл, рис. 3.13, 3.14) чи молярне співвідношення.

Питання 1: Попри те, що електронна мікроскопія є важливим методом вивчення архітектури полімерного фібрину, цей метод не може показати склад утворених фібрил. Чи плануєте ви використати конфокальну мікроскопію, застосувавши різні барвники для кожної з форм фібрин(оген)у, щоб довести, чи включаються частково гідролізовані молекули до побудови тривимірної сітки фібрину?

Питання 2: Якщо моноклональні антитіла та пептиди ефективно інгібують полімеризацію фібрину, чи можна застосовувати їх як прототипи антитромботичних засобів? Що обмежує та що сприяє такому їх застосуванню?

Питання 3: Наскільки агрегатометрія є адекватним методом дослідження взаємодії фібриногену з тромбоцитарними рецепторами? Які альтернативні методи вивчення функції тромбоцитів було б доцільно використати?

Тетяна ГАЛЕНОВА, кандидат біологічних наук, старший дослідник, доцент кафедри біохімії ННЦ "Інститут біології та медицини" Київського національного університету імені Тараса Шевченка, надала позитивний відгук, із зауваженнями та запитаннями:

1. Некоректність назв окремих підрозділів. Заголовки на кшталт «Фібриноген desB β 1-42», «Пептид B β 1-42» та подібні до них не відображають методичного змісту підрозділів і можуть вводити читача в оману. Доцільно було б сформулювати їх як «Одержання фібриногену desB β 1-42», «Одержання та характеристика пептиду B β 1-42» або аналогічно цьому, що чітко відповідало б фактичному наповненню розділів.

2. Відсутній розділ, який би висвітлював підхід отримання суспензії чистих тромбоцитів, натомість забагато уваги приділено загальній інформації що стосується денситометрії у програмі ImageJ та методу вестерн-блот, який, можливо, і було застосовано дисертантом для певних цілей, але в роботі про це не згадується.

3. Недостатня деталізація статистичної обробки. У підрозділі 2.3.7 «Статистична обробка даних» не розкрито ключових аспектів, таких як: метод перевірки нормальності розподілу, способи порівняння незалежних вибірок, критерії визначення статистичної значущості, програмне забезпечення, використане для аналізу. Відсутність цих даних знижує відтворюваність і

прозорість оцінки достовірності результатів.

4. Формулювання назв розділів («В β N-домен», «С-кінцевий субдомен» тощо) є занадто загальними й не відображають змісту або методологічного підходу. Доцільно було б конкретизувати назви, наприклад: «Дослідження функціональної ролі В β N-домену фібриногену за допомогою молекулярних ефektorів». Це точніше передало б і суть підходу, і об'єкт аналізу. Це ж стосується і назв підрозділів.

5. Недостатня літературна інтеграція. У дискусійній частині окремих підрозділів бракує зіставлення результатів із даними інших авторів. Більше того, при описі результатів відсутні посилання на інші джерела, що стосуються аналогічних або контрастних результатів. Включення таких зіставлень дозволило б краще інтегрувати результати у науковий дискурс та підвищити доказовість зроблених висновків.

6. Не розкрито механізми дії ефektorів. Зокрема, вплив пептидів та антитіл часто просто констатується без уточнення можливого механізму дії, хоча б гіпотетичного, якщо наразі не достатньо даних для формування остаточних висновків.

7. В окремих місцях опису результатів варто було деталізувати експериментальні умови (концентрації ефektorів, кількість повторів, морфометричні характеристики), що покращило б відтворюваність даних. Наприклад, у експериментах щодо впливу досліджуваних антитіл на агрегацію тромбоцитів слід вказувати кінцеві концентрації, а не об'єми внесеного розчину (0,025 мл; 0,05 мл, рис. 3.13, 3.14) чи молярне співвідношення.

8. У тексті наявні окремі граматичні та стилістичні неточності, а також невдалі або двозначні формулювання. Вони не є системними, однак потребують редакторської уваги для покращення наукового стилю викладення.

Питання 1: У межах дослідження автор використав синтетичний пептид В β 1–42 для оцінки його впливу на полімеризацію фібрину. Проте очікуваного інгібуючого ефекту виявлено не було. Такий результат, як вірно зазначає дисертант, може бути пов'язаний з відсутністю у пептиді стабільної вторинної структури. В контексті даного експериментального підходу, хотілося б почути думку дисертанта щодо альтернативної моделі експерименту, за якої пептид додається не до нативного фібриногену, а до його модифікованої форми – фібриногену desВ β 1–42, з якого експериментально видалено відповідну ділянку. Можливо, у цьому разі пептид міг би відігравати роль функціонального замінника втраченого домену і це б стало додатковим підтвердженням його залученості до процесу полімеризації фібрину.

Питання 2: У розділі 3.2 «Агрегація тромбоцитів» дисертант пише: «До суспензії тромбоцитів, позбавлених компонентів плазми крові, вносили нативний фібриноген або ж фібриноген desВ β 1–42 та індукували агрегацію за допомогою АДФ...», а нижче пише: «Натомість, внесення у збагачену тромбоцитами плазму крові пептиду В β 1–42 не мало жодної дії на агрегацію тромбоцитів...». У підписах до рисунків 3.11 та 3.12 зазначено, що мова йде про відмиті тромбоцити, тоді як 3.13 – плазму збагачену тромбоцитами. Те саме стосується і інших підрозділів щодо вивчення агрегації тромбоцитів – 4.2, 5.3 – в яких теж мова йде і про плазму і про суспензію клітин. Хотілося б уточнити, що саме було об'єктом дослідження: плазма збагачена тромбоцитами чи суспензія чистих клітин? Якщо і те, і інше – то чим був обумовлений вибір

конкретного об'єкту для різних експериментів?

Питання 3: Звертає на себе увагу різна реакція «відмитих тромбоцитів» на індуктор агрегації – АДФ за умов контрольного досліду (наприклад, показник на 100 с на рис. 3.11 – 15 %, рис. 3.12 – 70 % за однакової концентрації індуктора). Чим можна пояснити такі результати? Чи не може це бути свідченням похибки експерименту?

Питання 4: У роботі зазначено, що використані моноклональні антитіла (2d2a, I-5A, I-5B) розпізнають відповідні ділянки фібрин(оген)у – B β 14-15, A α 5350-595 та A α 414-430 відповідно. Проте у тексті дисертації не наведено підтверджень цієї специфічності, отриманих за допомогою методів мепінгу епітопів або попередніх досліджень. У теперішньому вигляді такі твердження мають вигляд припущень і потребують або експериментального обґрунтування, або посилання на достовірні джерела, що верифікують специфічність зазначених антитіл. Це важливо, оскільки інтерпретація їх ефектів на полімеризацію фібрину базується саме на передбачуваному зв'язуванні з конкретними функціональними сайтами.

У тексті трапляються поодинокі граматичні і стилістичні неточності, а також варіативність термінології;

У кінці більшості розділів бракує стислих підсумкових блоків, які б логічно завершували виклад і формулювали ключові висновки або перспективи;

У дискусійних розділах не вистачає порівняння отриманих результатів із даними інших дослідників, що обмежує аналітичну глибину деяких висновків;

У формулювання назв розділів є загальними й не відображають суті використаного функціонального підходу.

ІНШІ ПРИСУТНІ, без зауважень.

Результати відкритого голосування:

«За» 5 членів ради,

«Проти» немає членів ради.

На підставі результатів відкритого голосування разова спеціалізована вчена рада присуджує Євгенію КУЧЕРЯВОМУ ступінь доктора філософії з галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія.

Відеозапис трансляції захисту дисертації додається.

Голова разової
спеціалізованої
вченої ради

Сергій Костерін

Сергій КОСТЕРІН

