

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

B. O.

Директор Інституту біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України
академік НАН та АМН України,
доктор біологічних наук, професор
С.В. Комісаренко

протокол № 2 від 13.05.2025 р.



ВИСНОВОК

Про наукову новизну, теоретичне та практичне
значення результатів дисертації Платонова Олега Максимовича
“Антитромботична та антипроліферативна дія
антагоністів інтегринових рецепторів”,
поданої на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії в галузі
знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія»

1. Актуальність теми дисертаційної роботи. Незважаючи на значні досягнення у фармакологічних та інвазивних методах лікування серцево-судинних та онкологічних захворювань, вони багато років залишаються основними причинами смертності населення. У зв'язку з цим розширення можливостей терапії з впливом на основні ланки патогенеза цих процесів є важливим засобом зниження летальності і покращення прогнозу захворювання.

Одним з ключових рецепторів у перебігу цих патологічних процесів є інтегринові рецептори. Вони відповідають за агрегацію тромбоцитів за фізіологічних та патологічних умов й відіграють важливу роль у перебігу розвитку та метастазуванні пухлинної клітини на всіх етапах онкологічного процесу.

Відповідно, пошук та розробка нових біологічних агентів, які б були здатні селективно інгібувати зазначені та їм подібні патологічні процеси, є важливим питанням біохімії, біотехнології та біомедицини. Одним з таких біологічних агентів є дезінтегрини отрути змій. Дезінтегрини здатні селективно взаємодіяти із сайтами зв'язування інтегринових рецепторів, таким чином блокуючи їхню взаємодію з лігандами. Оскільки інтегрини активно залучені до процесів, які впливають на форму, проліферацію, транскрипцію, та міграцію пухлинних клітин, дезінтегрини можуть бути основою для розробки терапевтичних засобів лікування онкологічних захворювань. Більш того, їх може бути використано як компоненти для терапевтичного моніторингу, оскільки дезінтегрини можуть допомогти зменшити інвазивність пухлинних клітин, що обмежує здатність останніх до метастазування.

Метою роботи було отримання, характеристика, ідентифікація й перевірка антитромботичної, антипроліферативної й протионкологічної дії дезінтегрину як *in vitro*, так й *in vivo*, з метою аналізу його можливості стати частиною вже існуючих терапій або ж молекулярною основою для нових засобів боротьби із патологічними процесами.

2. У дисертації вирішено такі завдання:

1. Виявлено зниження агрегаційної здатності тромбоцитів шляхом моделювання патологічних станів (гепатоз, COVID-19, гостре запалення), пов'язаних з ризиком внутрішньосудинного тромбоутворення, на тваринах. Показано збільшення прокоагулянтного потенціалу тромбоцитарної ланки гемостазу за діабету, атеросклерозу та гепатиту, що потребує корекції інгібіторами агрегації тромбоцитів.
2. Отримано електрофоретично чисті препарати інгібіторів агрегації тромбоцитів з отрути *Echis multisquamatus*, *Calloselasma rhodostoma* та *Bitis arietans*. Охарактеризовано їх дію на процес агрегації тромбоцитів, доведено, що вони здатні безпосередньо взаємодіяти з GPIIb/IIIa-рецепторами тромбоцитів, що підтверджує приналежність до класу дезінтегринів.
3. Ідентифіковано дезінтегрин з отрути *Echis multisquamatus* та запропоновано модель його просторової структури поєднанням методів мас-спектрометрії та комп'ютерного моделювання.
4. Доведено ефективне зниження швидкості та ступеню агрегації тромбоцитів за внутрішньосудинного введення дезінтегрину з отрути *Echis multisquamatus* щурам *in vivo*.
5. Показано *ex vivo* ефективне інгібування процесу агрегації тромбоцитів дезінтегрином з отрути *Echis multisquamatus* у збагаченій тромбоцитами плазмі крові осіб з аспіринорезистентністю під час терапії гепарином та аспірином.
6. Показано пригнічення проліферативної активності клітин лінії карциноми легень Льюїс, клітин мікроглії миші (BV-2), МАЕС та HeLa під дією дезінтегрину з отрути *Echis multisquamatus*.
7. Показано гальмування пухлинного росту та пригнічення метастазування за умов перевивання щурам лінії Вістар та мишам лінії C57BL клітин LLC у випадку застосування дезінтегрину з отрути *Echis multisquamatus* як протипухлинного агента.

3. Наукова новизна одержаних результатів.

Основні наукові результати, висунуті на захист, полягають у тому, що:

Вперше проведено комплексне дослідження дії дезінтегрину за різних патологічних станів та доведено його ефективне інгібування процесів гіперагрегації тромбоцитів при вагітності з ускладненнями під час гестації на збагаченій тромбоцитами плазмі крові та при перебігу онкологічного захворювання на тваринній моделі *in vivo*;

Вперше побудовано теоретичну просторову модель молекули димеризованого дезінтегрину з отрути *Echis multisquamatus*;

Розроблено й удосконалено процес одержання дезінтегринів з цільної отрути.

4. Теоретичне значення одержаних результатів. Результати досліджень Платонова О. М., що відображені у дисертації, є ваговим внеском у дослідження інтегрин-опосередкованих процесів формування фібриново-тромбоцитарного

тромбу та проліферації й метастазування пухлинних клітин. У ході виконання роботи доведено, що застосування антагоністів інтегринових рецепторів ефективно пригнічує інтегрин-опосередковані функції клітин: у випадку тромбоцитів – інгібує їхню агрегацію *in vitro* та *in vivo*, а у випадку пухлинних клітин – зменшує виживаність та здатність до адгезії, запобігаючи прогресії пухлини та метастазуванню *in vivo*. Робота представляє собою завершений цикл пошукових досліджень, який починається з вибору патологічних станів, за яких необхідне інгібування процесу агрегації тромбоцитів, продовжується скринінгом отрути змії, як джерела потенційних антиагрегантних агентів, повною характеристикою та ідентифікацією поліпептидів – антагоністів інтегринових рецепторів, та завершується успішною апробацією найбільш ефективного дезінтегрину *in vivo*. Окремою важливою складовою роботи є формування уявлення про визначальну роль інтегрин-опосередкованих взаємодій у процесі адгезії та метастазування пухлинних клітин. Розуміння подібних взаємодій із залученням інтегринових рецепторів надасть краще усвідомлення важливості сигнальних шляхів під час патологічних процесів. на основі чого можна проводити дослідження зі створення препаратів

5. Практичне значення одержаних результатів. Зважаючи на результати характеристики, ідентифікації й визначення антитромботичної, антипроліферативної й протионкологічної дії дезінтегрину як *in vitro*, так й *in vivo*, а саме, інгібування процесу агрегації тромбоцитів та росту та виживаності пухлинних клітин, а також майже повне блокування метастазування за систематичного введення дезінтегрину з отрути *Echis multisquamatus*, проведені дослідження не лише вносять вклад у розуміння онкогенезу, але і відкривають можливості для розробки протипухлинних препаратів нового покоління чи покращення вже існуючих і працюючих терапій.

6. Особистий внесок здобувача. Представлена дисертаційна робота О.М. Платонова є самостійним та завершеним дослідженням, виконаним на високому науковому та методичному рівні, яке було здійснене автором відповідно до програми експериментальних досліджень, спланованих і виконаних протягом 2021-2025 р.р. Дисертантом було самостійно проведено аналіз даних літератури за темою роботи та виконано експериментальні дослідження по отриманню дезінтегринів, їх характеристики, ідентифікації та перевірці їх дії на процес агрегації тромбоцитів та онкогенезу *in vitro* та *in vivo*. Окремі дослідження, зокрема, по визначенні дії дезінтегрину на пухлинні клітини, було виконано за участі співробітників ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» та Навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» КНУ ім. Т. Шевченка.

Планування роботи, розробка методології, аналіз та обговорення результатів проведено за участі наукового керівника –академіка НАН України, д.б.н., проф. Комісаренка Сергія Васильовича та зав. відділу структури та функції білка д.б.н. Володимира Олександровича Чернишенка.

7. Публікації результатів роботи, їх обговорення. Основні результати дисертації опубліковано у 10 друкованих працях, із них 8 опубліковані у наукових виданнях, включених на дату опублікування до переліку наукових фахових видань України, 1 у періодичних наукових виданнях, віднесених до першого — третього квартилів (Q1—Q3) відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank або Journal Citation Reports. Аналіз внеску автора в публікації з питань, висвітлених у дисертації, показав, що внесок Платонова Олега Максимовича є вирішальним, зокрема в працях:

1. Vinnichuk, Y. D., Platonov, O. M., Gryshchuk, O. O., & Komisarenko, S. V. (2025). Experimental cancer rat models. *Ukrainian Biochemical Journal*, 97(1), 5–24. <https://doi.org/10.15407/ubj97.01.005>. (особистий внесок: дослідження, вичитка рукопису)
2. Korolova, D., Gryshchenko, V., Chernyshenko, T., Hornytska, O., Chernyshenko, V., Platonov, O., Klymenko, P., Reshetnik, Y., & Platonova, T. (2023). Blood coagulation factors and platelet response to drug-induced hepatitis and hepatosis in rats. *Animal Model and Experimental Medicine*, 6(1), 66–73. <https://doi.org/10.1002/ame2.12301>. (особистий внесок: дослідження, візуалізація, редагування рукопису) (Q1)
3. Zhelavskiy, M. A., Platonov, O. M., Kucheryavyy, Y. P., & Stohnii, Y. M. (2023). Aprobation of platelet aggregation inhibitor from *Echis multisquamatus* snake venom in vitro, in vivo and ex vivo. *Biotechnologia Acta*, 16(5), 55–60. <https://doi.org/10.15407/biotech16.05.055>. (особистий внесок: дослідження, візуалізація, редагування рукопису)
4. Baidakova, K.V., Stohnii, Y.M., Platonov, O.M. (2023). Fibrinogen-specific protease in the *Vipera renardi* snake venom. *Biotechnologia Acta*, 16(2), 11–12. <https://doi.org/10.15407/biotech16.02.011>. (особистий внесок: дослідження, візуалізація, методологія).
5. Platonov, O. M., & Us, I. V. (2023). Ex vivo study of the action of integrin receptors antagonist from *Echis multisquamatus* snake venom on platelets of pregnant women with complications during gestation. *Biotechnologia Acta*, 16(2), 37–39. <https://doi.org/10.15407/biotech16.02.037>. (особистий внесок: дослідження, інтерпретація результатів, візуалізація, написання оригінальної чернетки, редагування рукопису).
6. Us, I. V., Zhuk, S. I., Korolova, D. S., Platonov, O. M., & Tsaryk, Yu. O. (2022). Platelet hemostasis in the implementation of placental dysfunction. *Reproductive Health of Woman*, 6, 6–12. <https://doi.org/10.30841/2708-8731.6.2022.267676>. (особистий внесок: дослідження, візуалізація; інтерпретація результатів)
7. Iskandarov, E., Zinenko, O., Tupikov, A., Pitishkina, A., Platonov, O., Gryshchuk, V., Kucheriavyy, 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/10.7124/bc.000AA1>. (особистий внесок: дослідження, методологія, редагування)
8. Iskandarov, E., Platonov, O. M., Gryshchuk, V., Kucheriavyy, Y., Slominskiy, O., Stohnii, Y., Vartanov, V., & Chernyshenko, V. (2022). Fractionation of *Vipera berus berus* snake venom and detection of bioactive compounds targeted

to blood coagulation system. *Southeastern European Medical Journal*, 6(2), 20–31. <https://doi.org/10.26332/seemedj.v6i2.256>. (особистий внесок: дослідження, візуалізація)

9. Nikulina, V., Kucheryavyi, Y., Platonov, O. M., Gryshchuk, V., Stohniy, Y., Chernyshenko, V., Slominskyi, O., Rebriev, A., Savchenko, K., & Garmanchuk, L. (2022). Purification and characterization of platelet aggregation inhibitor from the venom of *Bitis arietans*. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 94(5), 7–17. <https://doi.org/10.15407/ubj94.05.007>. (особистий внесок: написання рукопису, агрегатометрія)
10. Korolova, D. S., Stohnii, Y. M., Gryshchuk, V. I., Zhuk, S. I., Us, I. V., Chernyshenko, T. M., Kostyuchenko, O. P., Klymenko, K. P., Platonov, O. M., Ivashchenko, O. I., & Chernyshenko, V. O. (2021). Thromboelastographic study of fibrin clot and molecular basis of maximum clot firmness. *Ukrainian Biochemical Journal*, 93(2), 56–63. <https://doi.org/10.15407/ubj93.02.062>. (особистий внесок: дослідження, візуалізація)

8. Апробація результатів дисертації.

1. Pitishkina A.O., Platonov O.M., Chernyshenko T.M., Gryshchuk V.I., Gornytska O.V. Purification of protein C activator from *Calloselasma rhodostoma* venom and it's approbation for the determination of protein C in blood plasma. Актуальні проблеми біохімії та біотехнології – 2021. Київ. 20-21 травня 2021 р. С. 20.
2. Kucheryavyi Ye.P., Gryshchuk V.I., Rebriev A.V., Platonov O.M., Savchenko K.S. The mechanism of anticoagulant action of the venom of *Brachypelma smithi*. Актуальні проблеми біохімії та біотехнології – 2021. Київ. 20-21 травня 2021 р. Р. 29.
3. Platonov, O. M., Marunych, R. Yu., Rebriev, A. V., Ryzhykova, M. V., Savchenko, K. S., Gryshchuk, V. I., Garmanchuk, L. V., Chernyshenko, V. O. (2021) Studying the effects of snake venom disintegrins on platelet aggregation and tumor cell viability. Актуальні проблеми біохімії та біотехнології – 2021. Київ. 20-21 травня 2021 р. – С. 31.
4. Stohnii, Y., Baidakova, K., Platonov, O., Kucheryavyi, Y., Rebriev, A., Iskandarov, E., Zinenko, O., Gryshchuk, V. Fibrinogenases from the animal venoms in the study of fibrinogen structure and functions. Conference: 26th congress of the ISFP&PA and Fibrinolysis workshop of the Hungarian Society of Thrombosis and Haemostasis At: Budapest. 11-14 October, 2023, P. 54.

9. Інформація щодо проведення біоетичної експертизи дисертаційних досліджень.

Дослідження на тваринних моделях відбувались в рамках вказівок і рекомендацій Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986) та «Біоетичної експертизи доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах» (Київ, 2006). Усі процедури, що описують експерименти з лабораторними тваринами та будь-які роботи з використанням матеріалів, проводилися з дотриманням норм біоетики.

За висновками Комісії було прийнято рішення, що дисертаційна 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). Усі процедури дослідження були схвалені Комітетом з питань захисту та використання тварин Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України (протокол № 7 від 04.10.2019 р.). Окремі дослідження виконано з дозволу Комітету з питань захисту та використання тварин ІЕПОР НАН України (протокол № 4 від 16.04.2015 р.). Рішення затверджено на засіданні Комісії з біологічної безпеки та біоетики від 23 квітня 2025 року, протокол № 4.

Таким чином, за результатами публічної презентації Платоновим Олегом Максимовичем наукових результатів дисертації “Антитромботична та антипроліферативна дія антагоністів інтегринових рецепторів” та її обговорення на розширеному засіданні професорсько-викладацького складу Випускової кафедри «Біологія» Інститут 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 Платонова Олега Максимовича на тему “Антитромботична та антипроліферативна дія антагоністів інтегринових рецепторів” є завершеною науковою працею та відповідає спеціальності 091 «Біологія». 2. Вважати, що дисертація Платонова Олега Максимовича відповідає «Порядку підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії та доктора наук у закладах вищої освіти (наукових установах)», затвердженого Кабінетом Міністрів України 23 березня 2016 року, постановою № 261, та рекомендувати її до захисту на засідання разової спеціалізованої вченої ради за спеціальністю 091 Біологія.

26.05.2025 р.

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



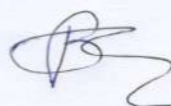
С.О. Костерін

Завідувач Випускової кафедри «Біологія»
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна
НАН України
д.б.н., с.н.с.



Л.Г. Бабіч

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



В.І. Грищук