

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу
Здоровського Олексія Олександровича
«Конкурентна взаємодія молекул пероксиду водню та
води з центрами впізнавання макромолекули ДНК»,
подану на здобуття наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук
за спеціальністю 01.04.02 – теоретична фізика.

В дисертаційній роботі **Здоровського Олексія Олександровича** розглянуто актуальну задачу, пов'язану з встановленням фізичних механізмів блокування макромолекули ДНК ракових клітин під час іонної терапії, при вирішенні якої застосовано теоретичні підходи та сучасні методи комп'ютерного моделювання.

В даний час одним з перспективних методів лікування онкологічних захворювань є іонна терапія, яка ґрунтується на опроміненні пучками важких іонів певних ділянок організму, насамперед тих, які локалізовані в глибині організму. Але конкретного молекулярного механізму деактивації біологічних клітин під час іонної терапії на сьогодні ще не встановлено. Тому всі спроби формування обґрунтованих уявлень щодо механізмів впливу іонної терапії на пухлинні утворення і можливості підвищення ефективності використання таких методів в клінічній практиці є актуальними завданнями, в тому числі, для фундаментальних теоретичних досліджень.

Відомо, що одним з способів деактивації ракових клітин є пошкодження їх ДНК при опроміненні, зокрема, при взаємодії молекул ДНК з продуктами радіолізу води, як правило, з вільними радикалами. В той же час, при дослідженнях процесу радіолізу води встановлено, що, при застосуванні іонної терапії, серед усіх продуктів радіолізу найбільшу концентрацію мають молекули пероксиду водню. Але визначенню ролі цих молекул в іонній терапії достатньої уваги не приділялося.

Оскільки молекули води та молекули пероксиду водню досить схожі за структурою і здатні утворювати водневі зв'язки з донорно-акцепторними групами, між ними можлива конкуренція при зв'язуванні з аналогічними групами молекули ДНК. Таким чином, ймовірно блокування молекулами пероксиду водню атомних груп ДНК, які є сайтами білково-нуклеїнових контактів і беруть участь в формуванні комплексів з білками під час реплікації та/або репарації ДНК в клітині, може бути механізмом деактивації ДНК ракових клітин і, як наслідок, ракової клітини в цілому.

Дослідження взаємодії пероксиду водню з ДНК на молекулярному рівні, а саме, моделювання взаємодії молекул пероксиду водню з активними групами ДНК і оцінка конкуренції зв'язування з такими центрами молекул води та молекул пероксиду водню, повинні суттєво поглибити розуміння фізичних процесів, що відбуваються під час іонної терапії, і, в перспективі, підвищити ефективність такого лікування. Тому використання відносно простих моделей для виконання комп'ютерного моделювання з метою встановлення можливості блокування активних сайтів молекули ДНК, як одного з молекулярних механізмів дії іонної терапії, є реальною для виконання, актуальною за метою та цінною за значенням отриманих результатів задачею. В той же час, дані такого дослідження є необхідними не тільки для загального розуміння дії іонної терапії, але і для формулювання рекомендацій щодо експериментального підтвердження запропонованих механізмів пошкодження ДНК.

Дисертаційну роботу виконано у рамках наукових тем Інституту теоретичної фізики ім. М.М. Боголюбова НАН України відповідно до планів фундаментальних держбюджетних НДР «Особливості механічних, електронних та магнітних процесів у низьковимірних системах на наномасштабах», № 0116U003192; «Комп'ютерне моделювання структури та динаміки ДНК в різних зовнішніх умовах», № 0117U003429; «Моделювання конкурентного зв'язування молекул води і пероксиду водню з атомними групами ДНК», № 0118U000662.

Дисертація оформлена згідно вимог МОН України і складається з вступу, п'яти розділів, висновків, списку літератури та додатків. Список використаних джерел містить 107 посилань. Загальний обсяг дисертації складає 119 сторінок.

Вступ містить всі необхідні пункти щодо оформлення дисертацій, а саме: обґрунтовано актуальність обраної тематики досліджень, сформульовано мету і основні задачі роботи, вказано новизну отриманих результатів та їхнє практичне значення, наведено особистий внесок автора роботи.

Перший розділ присвячено огляду сучасних літературних даних з дослідження фізичних механізмів дії пучка важких іонів на біологічне середовище. Автором проведено аналіз процесів радіолізу води під дією опромінення та розглянуто відомі на теперішній час фізичні механізми деактивації ДНК ракових клітин. Зроблено висновок про недостатність інформації щодо розуміння процесів таких пошкоджень ДНК, які не підлягають репарації, та необхідність детального вивчення молекулярних механізмів деактивації ДНК ракових клітин при використанні іонної терапії, насамперед, ролі молекул пероксиду водню.

У **другому розділі** описано методи виконання розрахунків та проведено верифікацію параметрів, які планувалося використовувати при моделюванні. Для цього автором здійснено розрахунок енергій простих комплексів, що складаються з: (1) молекул пероксиду водню та молекул води, (2) комплементарних пар основ А·Т, G·C та порівняння отриманих енергій і просторових конфігурацій з літературними даними. Зроблено висновок, що запропоновані для виконання розрахунків методи квантової хімії та молекулярної механіки з обраним силовим полем дають реалістичні результати.

У **третьому розділі** розглянуто взаємодію молекул пероксиду водню та води з сайтами неспецифічних білково-нуклеїнових контактів молекули ДНК, до яких відносяться фосфатні групи, в тому числі в присутності протиіонів Na^+ . В результаті виконаних квантово-хімічного та молекулярно-механічного моделювання знайдено комплекси, в яких молекула пероксиду водню взаємодіє з фосфатною групою з суттєво більшими енергіями, ніж молекула води. Енергетична перевага має місце для комплексів як в присутності протиіона Na^+ , так і без нього. Також оцінено часи життя молекул пероксиду водню та молекул води навколо фосфатної групи і зроблено висновок, що внаслідок більшого часу життя молекул пероксиду водню біля фосфатної групи вони можуть концентруватися біля поверхні подвійної спіралі ДНК, впливаючи таким чином на функціональні властивості макромолекули.

У **четвертому розділі** розглянуто взаємодію молекул пероксиду водню та молекул води з атомними групами нуклеїнових основ, які є сайтами специфічних білково-нуклеїнових контактів, і комплементарними парами основ з уотсон-кріківськими конфігураціями. Детально проаналізовано особливості зв'язування молекул пероксиду водню з кожною з основ ДНК та обома парами. Зроблено висновки, що і для кожної з

основ, і для кожної пари існують ділянки, де взаємодія з молекулами пероксиду водню є суттєво більш енергетично вигідною, ніж взаємодія з молекулою води. Встановлено також, що в присутності молекули пероксиду водню «привідкриті» та «розтягнуті» пари основ більш вигідні енергетично, ніж в присутності молекул води. Ця інформація, на мій погляд, є найбільш оригінальною і цінною для розуміння можливих механізмів пошкодження молекул ДНК на рівні її компонент в присутності продуктів радіолізу води, які утворюються під час іонної терапії.

У **п'ятому розділі** проаналізовано процес розкриття подвійної спіралі ДНК під дією зовнішніх сил на масштабах зсувів нуклеїнових основ в комплементарній парі і запропоновано метод експериментальної перевірки блокування молекулами пероксиду водню процесу розкриття подвійної спіралі ДНК методами мікрomanipування. На мій погляд, незважаючи на новизну наведених в попередніх розділах результатів та їх детальне обговорення, інформація цього розділу є найбільш оригінальною, з точки зору цінності її для експериментаторів, завдяки можливості передбачення даних експериментальних досліджень при дотриманні певних режимів їх виконання, які запропоновано автором, та для порівняння з результатами моделювання. Такий підхід при виконанні завдань кандидатських дисертацій мені зустрічається вперше і мені приємно привітати автора з таким цінним надбанням.

Дисертаційна робота **Здоровського О. О.** є завершеним науковим дослідженням, в якому наведено достатні за обсягом, новизною та науковою цінністю результати, виконано їх всебічний аналіз. В той же час, рецензування за змістом дисертаційної роботи та автореферату поставило деякі питання і зауваження.

1. Чому при постановці завдань дослідження не передбачалося проведення молекулярно-динамічного моделювання таких відносно простих систем, які було Вами розглянуто, або молекулярно-механічного моделювання у великому водному кластері в присутності відповідної кількості молекул пероксиду водню?

2. Чому для виконання моделювання Ви обрали саме атом-атомні потенціали Полтева 1980 року? Є більш сучасні силові поля, в тому числі стандартні, наприклад, CHARMM та AMBER.

3. В чому, на Ваш погляд, відмінність звичайної і ракової клітини з точки зору схильності до впливу двох факторів – опромінення при іонній терапії та наявності пероксиду водню? Адже в здорових клітинах, які потрапляють в зону опромінення, теж утворюються продукти радіолізу води і, напевне, в тій же кількості. І в них ДНК (яка в дійсності компактизована в ядрі клітини і доступна для будь-якого зовнішнього оточення тільки в дуже короткий проміжок часу) також буде піддаватися деактивації і, можливо, за тим же механізмом.

4. Серед сформульованих завдань роботи у другому завданні значиться: «Проаналізувати, як врахування ефектів середовища впливає на отримані результати.»

Питання. Яке оточення Ви аналізуєте? Реально в Ваших розрахунках присутні максимум одна молекула пероксиду водню в оточенні 6 молекул води або 4 молекули пероксиду водню (система Гуанін – пероксид водню). При цьому в системах з наявністю компонентів ДНК (фосфатна група, основи, пари основ) присутні або тільки молекули води, або тільки молекули пероксиду водню. Тобто, немає можливості оцінити

конкуренцію за місця зв'язування як на компонентах ДНК, так і з іонами. Хоча в роботі Ви згадуєте таку можливість (стор. 37): «Оскільки молекули пероксиду водню та води мають схожу просторову структуру, вони можуть конкурувати в розчині за місця зв'язування з ДНК.»

Однак, наведені зауваження не ставлять під сумнів ані достовірність основних результатів роботи, ані зроблені на їхній основі висновки, і не впливають на загальну високу оцінку роботи. Дисертація написана гарною мовою практично без помилок і стилістичних неточностей та відмінно ілюстрована. Основні результати роботи повністю опубліковано в 5 статтях в фахових закордонних (European Biophysics Journal, *Impact Factor* 2.527; Journal European Physical Journal D, *Impact factor* 1.331) і вітчизняних (Ukrainian journal of physics, *Impact factor* 0,43) журналах та апробовано на 11 міжнародних і національних наукових конференціях. Автореферат оформлено згідно з правилами. Він надає повне уявлення про дослідження, що виконувалися в роботі.

Враховуючи актуальність теми, новизну, наукове та практичне значення одержаних результатів, вважаю, що дисертаційна робота «Конкурентна взаємодія молекул пероксиду водню та води з центрами впізнавання макромолекули ДНК» відповідає вимогам Порядку присудження наукових ступенів, затверджених Постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. №567, щодо кандидатських дисертацій, а її автор, **Здоровський Олексій Олександрович**, заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук за спеціальністю 01.04.02 – теоретична фізика.

Офіційний опонент
доктор фіз.-мат. наук, проф.,
завідувач відділом біологічної фізики
Інституту радіофізики та електроніки
ім. О.Я. Усикова НАН України

 Г.В.Шестопалова

Підпис доктора фіз.-мат. наук, проф.,
завідувача відділом біологічної фізики
Інституту радіофізики та електроніки
ім. О.Я. Усикова НАН України Г.В.Шестопаловой **засвідчую.**

Вчений секретар
Інституту радіофізики та електроніки
ім. О.Я. Усикова НАН України,
кандидат фіз.-мат. наук

  І.С. Почаніна

5 лютого 2020 р.