

РІШЕННЯ

разової спеціалізованої вченої ради присудження ступеня доктора філософії

Здобувач ступеня доктора філософії Пікус Поліна Олексіївна, 1994 року народження, громадянка України, освіта вища, у 2017 році закінчила Київський Національний Університет імені Тараса Шевченка, отримавши ступінь магістра за спеціальністю «Біологія». Молодший науковий співробітник відділу ензимології білкового синтезу лабораторії «Центр колективного користування науковими приладами НАН України». Виконала освітньо-наукову програму «Біологія» за освітнім рівнем «доктор філософії».

Разова спеціалізована вчена рада утворена наказом № 18 від 24.12.2024 р. Інституту молекулярної біології і генетики Національної академії наук України, м. Київ в складі:

Голова
разової
спеціалізованої
вченої ради

Телегсєв Геннадій Дмитрович, доктор біологічних наук, професор, завідувач відділу молекулярної генетики Інституту молекулярної біології і генетики НАН України

Рецензенти

Хоруженко Антоніна Іванівна, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник відділу сигнальних систем клітини ІМБГ НАН України.

Мацевич Лариса Леонідівна, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник відділу генетики людини ІМБГ НАН України.

Опоненти

Гарманчук Людмила Василівна, доктор біологічних наук, професор Навчально-наукового центру (ННЦ) «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

Мінченко Жанна Миколаївна, доктор біологічних наук, професор, завідувачка лабораторії імуногенетики відділу гематології та трансплантології Інституту клінічної радіології Державної установи «Національний

на засіданні 13 лютого 2025 року прийнято рішення про присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 09 Біологія **Пікус Поліні Олексіївні** підставі публічного захисту дисертації «Розробка способів посилення терапевтичного ефекту мезенхімальних стовбурових клітин» за спеціальністю 091 «Біологія та біохімія».

Дисертацію виконано на базі відділу регуляторних механізмів клітини Інституту молекулярної біології і генетики НАН України у період з 2017 року по 2024 рр.

Науковий керівник - Кордюм Віталій Арнольдович, член-кореспондент НАН України, академік НАМН України, професор, завідувач відділу регуляторних механізмів клітини Інституту молекулярної біології та генетики НАН України.

Дисертацію подано у вигляді спеціально підготовленого рукопису українською мовою, що відповідає вимогам пункту 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 р. №44 (зі змінами).

Дисертація Пікус Поліни є самостійною та ґрунтовною науковою працею, що виконана з дотриманням вимог академічної доброчесності, отримані результати якої мають теоретичне та практичне значення для галузі знань Біологія. Дисертаційна робота Поліни Пікус присвячена пошуку та розробці способів посилення терапевтичної ефективності МСК пуповини людини та дослідити ефективність МСК з посиленням терапевтичним потенціалом на тваринних моделях деяких захворювань. В ході виконання дисертаційного дослідження було одержано ряд нових даних. Вперше на моделі цирозу печінки було проведено порівняння терапевтичної ефективності системного введення МСК та інтраперитонеального введення інкапсульованих в альгінатні капсули МСК пуповини людини і показано посилення терапевтичного потенціалу МСК шляхом інкапсуляції. Вперше розроблено спосіб визначення терапевтичної ефективності МСК, який дозволяє ефективно та достовірно порівнювати різні препарати МСК, одержані різними методами та з різного матеріалу. Також, було вперше досліджено вивчення взаємодії МСК з інтраперитонеальними макрофагами *in vivo* і доведено їх поляризацію в протизапальній фенотипі M2. Вперше показано посилення терапевтичного потенціалу МСК шляхом прекодиціонування пероксидом водню (30μM), як за впливом на динаміку розвитку терапевтичного ефекту на гострий перитоніт, так і за ефективністю поляризації інтраперитонеальних макрофагів. На моделі гострого панкреатиту вперше показано посилення терапевтичного

потенціалу МСК прекондиціонованих пероксидом водню, що виражається у скороченні в 2 рази часу відновлення підшлункової залози у порівнянні з впливом вихідних МСК.

За матеріалами дисертації опубліковано 11 наукових праць: 5 статей з яких 2 входять до провідних фахових видань, затверджених МОН України та 3 статті в журналах, що входять до міжнародних наукометричних баз (Scopus/Web of Science), та 6 тез у збірках міжнародних конференцій.

Статті у фахових та міжнародних виданнях:

1. **Pikus P.**, Rymar S., Pustovalov A., Shuvalova N., Reshetnyk Ye., Kordium V. 2023. Comparison of the therapeutic effect of native and preconditioned human umbilical cord-derived multipotent mesenchymal stromal cells on a rat model of acute pancreatitis. *Cell and Organ Transplantology*, 11(2), 104-113. doi.org/10.22494/cot.v11i2.156.

2. Rymar S., **Pikus P.**, Buchek P., Shuvalova N., Pokholenko Ia., Irodov D., Kordium V. 2022. Comparison of the Therapeutic Effects of hUC-MSC Intravenous Delivery and Intraperitoneal Administration of MSCs Encapsulated in Alginate Capsules for the Treatment of Rat Liver Cirrhosis. *Biointerface research in applied chemistry*, 12(4), 5054 – 5070. doi.org/10.33263/BRIAC124.50545070.

3. **Pikus P.**, Rymar S., Shuvalova N., Kordium V. 2022. Study of the interaction between macrophages and human umbilical cord MSCs *in vivo* on the model of peritonitis in mice. *Biopolymers and Cell*, 38(4), 231–241. doi.org/10.7124/bc.000A80.

4. **Пікус П.О.**, Рymar С.Ю., Шувалова Н.С., Бучек П.В. 2020. Morphological features of recovery in model rat liver cirrhosis induced by CCl₄ after transplantation of mesenchymal stem cells from human umbilical cord. *Фактори експериментальної еволюції організмів*, 26, 252-257. doi.org/10.7124/FEEО.v26.1275.

5. **Пікус П.О.**, Рymar С.Ю., Шувалова Н.С., Кордюм В.А. 2019. Influence of the dose of human umbilical cord mesenchymal stem cells on acute inflammation on the peritonitis model in mice. *Фактори експериментальної еволюції організмів*, 25, 304-309. doi.org/10.7124/FEEО.v25.1182.

Публікації тез наукових доповідей на конференціях:

1. **Pikus P.O.**, Rymar S.Y., Kordium V.A. 2022. The therapeutic effect of mesenchymal stem cells derived from the human umbilical cord, using different methods of delivery to an animal model of liver cirrhosis. Kyiv, Ukraine. All-Ukrainian conference on molecular and cell biology with international participation. P. 134.

2. **Pikus P.**, Rymar S., Pustovalov A., Kordium V. 2022. Comparative characteristics of the treatment of acute pancreatitis in rats using native and preconditioned human umbilical cord MSCs with hydrogen peroxide. IUBMB–46th FEBS–PABMB Congress, Lisbon, Portugal, V. 12. P 248.

3. **Pikus P.**, Rymar S., Shuvalova N., Pustovalov A. 2021. Role of umbilical cord – derived mesenchymal stem cells in the rat model of acute pancreatitis. Збірник тез конференції-конкурсу молодих вчених « Актуальні проблеми біохімії та біотехнології – 2021». Київ, Україна, С. 38.

4. **Pikus P.**, Rymar S. 2021. Studying the dynamics of the development of the therapeutic effect of initial and preconditioned MSCs on a model of acute abdominal inflammation of mice. 45th FEBS Congress, Molecules of Life: Towards New Horizons, Ljubljana, Slovenia, V.11. P. 334.

5. **Pikus P.**, Rymar S., Shuvalova N. 2019. Study of the dynamics of the development of the therapeutic effect of native and preconditioned human MSCs based on the model of acute abdominal inflammation in mice. XII Український біохімічний конгрес, Тернопіль, Україна. Медична та клінічна хімія. Т. 21(3), с. 282.

6. **Pikus P.**, Rymar S., Buchek P., Shuvalova N. 2018. Comparison of the efficacy of Free and encapsulated human umbilical cord MSCs in the correcting rat liver cirrhosis induced by CCl₄. 15th HiMB Symposium 10-13 Sep. Horizons in Molecular Biology. Goettingen, Germany. P. 176.

У дискусії взяли участь голова і члени разової спеціалізованої ради:

Телегєєв Геннадій Дмитрович, доктор біологічних наук, професор, завідувач відділу молекулярної генетики Інституту молекулярної біології і генетики НАН України. Оцінка позитивна без зауважень.

Хоруженко Антоніна Іванівна, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник відділу сигнальних систем клітини ІМБГ НАН України. Надала позитивну рецензію із зауваженнями та запитаннями:

1. У анотації необхідно представити основні кількісні результати досліджень.
2. У огляді літератури слід навести дані інших авторів, щодо лікування гострого панкреатиту, запалення черевної порожнини та цирозу печінки за допомогою стовбурових клітин (що є завданням дисертації).
3. Розділ 3.3.1 потрібно ясно описати які відбулись зміни у тканині печінки. «Збільшення змін паренхіми печінки» потрібно замінити на морфологічний опис. За знімками важко судити про морфологію печінкової дольки як у контролі, так і у експерименті.
4. У яких одиницях вимірювали площу фіброзу?
5. Основне питання: як стимулювання ураження, а потім введення МСК відобразилось на функціональній активності печінки?
6. Вкажіть шкалу для Рис. 3.14. б.
7. Таблиця 3.3, вкажіть одиниці вимірювання для без'ядерних ациноцитів.
8. У таблиці 3.4 дані кількох експериментів? Якщо так, позначте це.

9. Стр. 93. чи визначали рівень ліпази у дослідних тваринок? Якщо ні, наведіть посилання, що визначення лише амілази достатньо для моніторингу перебігу захворювання.

10. За малюнком 3.19 не можна стверджувати про наявність незавершеного цитокінезу. Чи спостерігали метафазні пластинки, або більш переконливі ознаки проліферації клітин?

Мацевич Лариса Леонідівна, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник відділу генетики людини ІМБГ НАН України. Надала позитивний відгук, принципових зауважень не було, є рекомендації до стилю написання та окремі зауваження, а саме:

1) У розд. 2.1.2 вказано смертність тварин в процесі моделювання патології. Рекомендується також вказати на смертність в контрольній групі (точніше, на відсутність такої), а також навести аналогічні показники для інших тваринних моделей (розд.2.1.1 та 2.1.3).

2) Рекомендовано додати критерії, за якими визначали успішний розвиток патології, в розд. 2.1.1 - 2.1.3.

3) У розд. 2.2 у фразі "Адипогенний, остеогенний і хондрогенний потенціал диференціації МСК пуповини людини перевіряли за допомогою набору для диференціації StemPro®" рекомендовано вказати, за яким протоколом це робили (очевидно, це протокол виробника?). Так само - в розд. 2.4.2 та 2.4.3, де йдеться про виділення РНК та реакцію зворотної транскрипції; в розд. 2.4.5 (активність альфа-амілази) - тобто, в усіх місцях, де використовувалися фірмові кіти, вказати, чи використовувалися рекомендації виробника, чи інший протокол (і який саме)

4) Так само рекомендовано додати посилання на протоколи гістологічного забарвлення

5) У розд.2.2.1 рекомендовано вказати концентрацію розчину трипсину

6) В тому ж розділі рекомендовано виправити формулювання "29-G шприц" на коректнішу - "шприц з голкою діаметром 29G"

7) Також не рекомендовано вживати позначення "0 точка", як таке, що не відповідає загальноприйнятій нормі, і замінити його на "нульова точка" чи "точка 0".

8) У розд. 2.4.10 рекомендовано вказати, за допомогою якого методу проводилася оцінка нормальності розподілу.

9) Також рекомендовано уточнити в термінологічному словнику української мови, чи формулювання "однонаправлений дисперсійний аналіз" є коректним, оскільки воно виглядає як калька з англійської мови (раніше вживалося

формулювання "однофакторний дисперсійний аналіз", яке, на думку рецензента, більш точно описує суть цього методу)

10) Невдалою видається також фраза "Для тестів $p < 0,05$ та $p < 0,01$ вважалось значущим": адже $p < 0,01$ є підмножиною $p < 0,05$, тому достатньо вказати лише цей останній рівень значущості. Якщо ж в одних тестах приймався рівень значимості $p < 0,05$; а в інших - $p < 0,01$, то варто переформулювати процитоване речення саме таким чином, вказуючи, де саме який рівень значущості застосовувався.

11) На рисунки з фото гістологічних препаратів рекомендовано додати стрілки, що вказують на об'єкти інтересу (так, як це зроблено на рис. 3.11)

12) У розд. 3.1.2.1. раптово з'являється згадка про часткову гепатектомію ("Це свідчить про те, що часткова гепатектомія, яку проводили тваринам, не стимулює відновлення печінки"); тоді як ані в методичній частині не наведено протоколу операції, ані в описі експерименту не вказано, до яких саме тварин застосовували цю процедуру.

13) Таблицю 3.2 (дані морфометрії) рекомендується переформувати таким чином, щоб можна було побачити динаміку показників;

14) В одних експериментах як терапевтичний агент використовувались інкапсульовані МСК; а в інших - прекондиційовані. Рекомендовано коротко обґрунтувати вибір препарату МСК для терапії конкретної патології

15) Рекомендовано об'єднати рис. 3.14 і 3.15 в один рисунок. Так само - рис. 3.19 і 3.20

16) В заголовку табл. 3.4 рекомендовано вказати, про яку часову точку йдеться.

Гарманчук Людмила Василівна, доктор біологічних наук, професор Навчально-наукового центру (ННЦ) «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Надала позитивний відгук із зауваженнями та запитаннями:

1. При моделюванні гострого панкреатиту на щурах відмічено високу смертність у тварин. Скажіть, це стосувалось лише експериментальних груп чи групи негативного контролю без введення МСК?

2. Системне питання: Ви моделювали патології у мишей та щурів, а використовували МСК пуповини людини- тобто йде мова про алогенну трансплантацію МСК? А чи відомі Вам результати застосування сингенних МСК на тваринних моделях з гострим запаленням, або ж на інших патологіях, наприклад, канцерогенез, ішемія, кардіоваскулярні патології, ретинопатія, тощо?

3. Відомо, що за введення алогенного матеріалу, імуногенність в організмі акцептора є достатньо високою? Можете підтвердити чи спростувати моє

твердження. І якщо Ви досягали імунотолерантності за введення МСК то яким чином?

4. І наступне питання, в клінічному застосуванні МСК людини використовують проти патологій людини? Щодо використання МСК людини проти патологій, індукованих у експериментальних тварин, що є основним побічним ефектом у відторженні МСК в організмі тварин?

5. Чи були в експерименті групи умовного контролю, де тваринам не індукували запалень, а просто вводили МСК, і чи спостерігали в такому випадку відмінності з інтактним контролем?

6. Яким чином за введення інкапсульованих МСК, Ви стандартизували альгінатні капсули, зокрема по вмісту клітин або ж за розміром власне капсул?

7. І при цьому, чи були співрозмірними концентрації МСК введені системно, внутрішньовенно та перитонеально (інкапсульовані) за індукованого тетрахлорметаном цирозу печінки?

8. Як ви аналізували морфометричні показники гепатоцитів (зрізи, цитологічні препарати)? І яким чином відрізняли фіброзну тканину від паренхіми печінки?

9. На мій погляд не зафіксовано різниці за цирозу печінки між різними способами інокуляції МСК: введенням в альгінатних капсулах та внутрішньовенною трансплантацією, зокрема за морфометричними показниками. Поясніть будь ласка? І чи спостерігали ви збільшення/зменшення багатоядерних гепатоцитів після введення МСК в порівнянні з позитивним та негативним контролем?

10. Який біологічний ефект прекодиціонування МСК пероксидом гідрогену? Відомо, що пероксид гідрогену є проапоптичним фактором, і чи відомо Вам в яких концентраціях ця сполука індукує апоптоз?

11. На рис.3.8 не зовсім вдало наведено різницю між групами $\#P < 0,5$ – позитивного контролю в порівнянні з вихідними МСК/ прекодиціонованими пероксидом гідрогену МСК. Поясніть будь ласка суть різниці, в динаміці/ зміні основним показників, що свідчать про протизапальні ефекти?

12. Запальні процеси при перитоніті за введення МСК ви фіксували лише за концентрацією макрофагів в ексудаті?

13. Фенотип M2 макрофагів Ви підтверджували лише за експресією IL-10? І чи відомі Вам інші маркери M2 фенотипу макрофагів?

14. При порівнянні різних факторів, що застосовувались для прекодиціонування МСК Ви вказуєте, що найбільш ефективним методом підвищення терапевтичного потенціалу МСК є прекодиціонування низькими дозами пероксиду гідрогену. А чи може цей метод бути ефективним в клінічному застосуванні?

15. Яким чином обраховували площу колагену у моделях гострого панкреатиту та цирозу печінки щурів?

Мінченко Жанна Миколаївна, доктор біологічних наук, професор, завідувачка лабораторії імунотгенетики відділу гематології та трансплантології Інституту клінічної радіології Державної установи «Національний науковий центр радіаційної медицини, гематології та онкології Національної академії медичних наук України». Надала позитивний відгук, зауважень немає, але є деякі дискусійні питання:

1. В роботі Ви зазначили, що розроблено біотехнологічні аспекти швидкого та ефективного способу визначення та порівняння *in vivo* терапевтичного потенціалу різних препаратів МСК, але у висновках сам дизайн алгоритму досліджень не висвітлено. Охарактеризуйте спектр основних критеріїв розробленого Вами алгоритму, чим Ваш методологічний підхід відрізняється від існуючих методів, і які переваги він має.

2. Відомо, що значний вплив на якість терапевтичного ефекту МСК визначає якість самих клітин, що обумовлює необхідність стандартизації терапевтичних МСК за функціональними критеріями. Чи сформовано на сьогодні в світовій практиці спектр критеріїв для паспортизації функціональної якості МСК і якими критеріями Ви користувались при відборі клітин.

Результати відкритого голосування:

«За» — 5

«Проти» — 0

На підставі результатів відкритого голосування разова спеціалізована вчена рада постановила:

1. Присудити Пікус Поліні Олексіївні ступень доктора філософії з галузі знань – 09 Біологія, спеціальність - 091 Біологія та біохімія.
2. Рішення разової спеціалізованої ради затвердити.
3. Підготувати наказ про видачу Пікус Поліні Олексіївні диплома доктора філософії та додатка до нього європейського зразка.

Відеозапис трансляції захисту дисертації додається.

Голова разової спеціалізованої
вченої ради



(підпис)

Телегєєв Геннадій
(власне ім'я та прізвище)