

РЕЦЕНЗІЯ

офіційного рецензента – кандидата біологічних наук, старшого наукового співробітника відділу сигнальних систем клітини Інституту молекулярної біології і генетики НАН України Хоруженко Антоніни Іванівни

на дисертаційну роботу Пікус Поліни Олексіївни

«Розробка способів посилення терапевтичної ефективності мезенхімальних стовбурових клітин»,

подану до захисту у разову спеціалізовану вчену раду в Інституті молекулярної біології і генетики НАН України на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 – «Біологія» за спеціальністю 091 – «Біологія та біохімія»

Актуальність теми. Дослідження із використання мезенхімальних стовбурових клітин, як терапевтичних засобів, були багатообіцяючими у багатьох напрямках біомедицини із самого їхнього відкриття. Нараз мезенхімальні стовбурові клітини запропоновані до використання у діабетології при лікуванні уражень шкіри, при лікуванні опорно-рухової системи, тощо. Однією із переваг їх застосування є джерела отримання, у першу чергу пуповина та плацента, що наявні у достатній кількості і не потребують інвазивних процедур забору матеріалу. Проте, існують різні дані, щодо ефективності використання мезенхімальних стовбурових клітин у медицині. І питання підвищення ефективності лікування за допомогою мезенхімальних стовбурових клітин стало нагальним уже протягом тривалого проміжку часу. Власне, вирішенню саме цієї проблеми і присвячена представлена дисертаційна робота. Відтак, актуальність проведеної роботи цілком обґрунтована. Більш того, отримані результати будуть корисними для клінічного застосування.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота Пікус П.О. виконана у рамках науково дослідних тематик відділу регуляторних механізмів клітини Інституту молекулярної біології і генетики НАН

України: «Вивчення біологічних особливостей альтернативних станів МСК желе Вартона пуповини людини», (реєстраційний номер 0117U003913, 2018-2022 рр).

Оцінка обґрунтованості наукових результатів і висновків, сформульованих у дисертаційній роботі. Переважна частина експериментальних даних представленої роботи отримана та оброблена автором самостійно. Наукова співпраця з керівником роботи та іншими спеціалістами-співавторами докладно представлена у підрозділі «*Особистий внесок здобувача*».

Експериментальна частина роботи виконана із залученням сучасних та класичних методів морфології, молекулярної та клітинної біології, підбір яких повністю відповідає досягненню поставлених задач і дозволив зробити цілком обґрунтовані висновки з отриманих результатів.

Отримані результати в достатній мірі представлені якісними мікрофотографіями, блотограмами, гістограмами, таблицями. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програмного забезпечення GraphPad Prism версії 8.0.1. ((«GraphPad Software», США) та MS Excel («Microsoft»). Статистичний аналіз нормально розподілених двох груп проводили за допомогою t-критерію Стюдента. Порівняння за участю трьох та більше груп з нормально розподіленими виборками проводили за допомогою ANOVA з наступною оцінкою одностороннього дисперсійного аналізу та за допомогою критерію Тьюкі.

Висновки роботи належним чином відображають отримані результати.

Наукова новизна представлених результатів, повнота викладення в опублікованих працях.

Дослідження Пікус П.О. поглиблюють розуміння можливостей підвищення терапевтичного потенціалу мезенхімальних стромальних клітин (МСК) пуповини людини за допомогою маніпуляцій, таких як інкапсуляція в гідрогелях і прекондичіонування низькою дозою H_2O_2 , а саме:

на моделі цирозу, індукованого введенням CCl_4 , вперше проведено порівняння терапевтичного ефекту системного введення суспензії МСК та МСК, інкапсульованих у альгінатні мікрокапсули. Результати показали, що інкапсульовані МСК демонструють значно вищу ефективність у відновленні структури та функції печінки;

на моделі стерильного гострого запалення черевної порожнини у мишей вперше досліджено динаміку розвитку протизапального ефекту МСК та розроблено швидкий та відтворюваний метод для оцінки терапевтичної ефективності МСК. Методика дозволяє об'єктивно порівнювати ефективність різних препаратів МСК в однакових умовах;

вперше показано, що прекондиціонування МСК низькими дозами H_2O_2 значно підвищує їх терапевтичний потенціал у порівнянні із іншими чинниками;

вперше з'ясовано, що прекондиціонування МСК низькими дозами H_2O_2 змінює взаємодію перитонеальних макрофагів із МСК, сприяючи швидкій поляризації прозапальних макрофагів у протизапальний фенотип М2, індукує підвищену експресію *IL-10*, що посилює протизапальний ефект, покращує фагоцитарну активність макрофагів;

на моделі гострого панкреатиту, викликаного високою дозою L-аргініну, вперше показано, що трансплантація прекондиціонованих H_2O_2 МСК вдвічі швидше відновлює структуру та функцію підшлункової залози у порівнянні з вихідними МСК.

Отже, дослідження Пікус П.О. демонструють перспективність маніпуляцій із МСК для підвищення їх терапевтичного потенціалу, особливо за допомогою прекондиціонування та інкапсуляції. Ці підходи відкривають нові можливості для застосування МСК у лікуванні складних патологій, таких як цироз печінки, гострий панкреатит і запальні процеси.

Результати, викладені в дисертації, повністю представлені в 11 друкованих працях, серед них 5 статей у фахових наукових виданнях та 6 тез у матеріалах

наукових форумів, як українських, так і зарубіжних. Роботи опубліковані протягом 2018-2023 років.

Теоретичне та практичне значення результатів дисертаційного дослідження. Отримані результати впроваджуються у наукових установах, а саме: лабораторія генно-клітинних модифікацій відділу генних технологій ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАН України» впровадила результати дослідження у свою практичну діяльність; прекондиціоновані мезенхімальні стовбурові клітини пуповини людини, оброблені низькою дозою H_2O_2 , були впроваджені у роботу відділу регуляторних механізмів клітини Інституту молекулярної біології і генетики НАН України відділу молекулярної імунології Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, лабораторії експериментальної хіміотерапії вірусних інфекцій ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського» НАМН України. Окрім того, у результаті роботи була створена тест-система, яка дозволяє порівнювати терапевтичний потенціал різних препаратів МСК пуповини людини, оцінювати вплив різних факторів на терапевтичний ефект МСК. Ця тест-система може бути використана для швидкого та ефективного залучення у доклінічних дослідженнях, що значно прискорює оцінку ефективності нових підходів у клітинній терапії. Практична реалізація отриманих результатів у провідних науково-дослідних установах України та патентний захист підкреслюють цінність дослідження. Розроблені методи й інструменти створюють передумови для подальшого розвитку клітинних технологій та впровадження їх у медичну практику.

Оцінка змісту дисертаційної роботи, мови, стилю, дотримання норм академічної доброчесності. Дисертація Пікус Поліни Анастасії Олександрівни оформлена відповідно до вимог наказу МОН України № 40 від 12 січня 2017 року «Про затвердження вимог до оформлення дисертації». Дисертацію викладено українською мовою на 154 сторінках комп'ютерного тексту. Розділ огляд літератури побудований на аналізі 301-го літературного джерела, переважна більшість із яких сучасні. В огляді літератури викладені основні дані про об'єкт

дослідження (вихідні та прекодиційовані МСК пуповини людини). Літературні дані викладені чітко, логічно, із дотриманням причинно-наслідкових зв'язків. Розділ *«Огляд літератури»* дає чітке уявлення про стан проблеми і важливість продовження наукових досліджень в межах, обраних автором.

Експериментальна частина роботи виконана із залученням численних сучасних та класичних методів біологічних досліджень. Значну частину із них складають тваринні моделі низки захворювань. В цілому, докладний опис методів роботи дає змогу при необхідності відтворити умови експерименту і дозволяє зробити висновок про адекватність обраних методів. У роботі проведена ретельна статистична обробка отриманих результатів. Отже, методична частина представленої роботи є дуже вдалим і адекватно підібраним поєднанням сучасних методів біохімії, молекулярної і клітинної біології та класичних морфологічних методів досліджень.

Результати досліджень викладені у розділі *«Аналіз та узагальнення результатів»* з належною повнотою і наведенням відповідних мікрофотографій, таблиць та гістограм.

В дисертаційній роботі були отримані результати, що дозволяють суттєво підвищити терапевтичний ефект мезенхімальних стовбурових клітин для лікування запалень, уражень печінки та підшлункової залози.

В цілому, викладення і аналіз результатів свідчить про глибоке володіння автором знаннями з широкого кола проблем, що стосуються галузі досліджень.

Робота викладена грамотною науковою мовою.

При аналізі дисертаційної роботи Пікус П.О. принципових зауважень наукового характеру щодо викладених результатів не виникло.

Окремі зауваження і побажання стосуються переважно аналізу отриманих даних та редакційного оформлення тексту роботи:

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?

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Пікус Поліни Олексіївни «Розробка способів посилення терапевтичної ефективності мезенхімальних стовбурових клітин», подана на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 09 - «Біологія» за спеціальністю 091 - «Біологія та біохімія» є самостійною завершеною науковою працею, що містить новітні наукові положення, обґрунтовані отриманими результатами та не порушує принципів академічної доброчесності. За методичним рівнем виконання, обсягом проведених досліджень, науковою новизною результатів, повнотою публікацій матеріалів дослідження, їх апробації на наукових конференціях

дисертаційне дослідження повністю відповідає галузі знань 09 «Біологія», спеціальності 091 «Біологія та біохімія» та сучасним вимогам, які висуваються до дисертацій, затвердженим наказом МОН України «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» від 12 січня 2017 р. №40 та положенню Постанови Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. №44 "Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії" (зі змінами, внесеними згідно із постановою Кабінету міністрів України №341 від 21.03.2022 та постановою Кабінету міністрів України 502 від 19.05.2023 р.), а її авторка Пікус Поліна Олексіївна заслуговує на присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 09 "Біологія" 091 - "Біологія та біохімія".

Рецензент:

Кандидат біологічних наук

С.н.с. відділу сигнальних систем клітини

Інституту молекулярної біології

генетики НАН України

Антоніна Хоруженко