

РІШЕННЯ
разової спеціалізованої вченої ради
про присудження ступеня доктора філософії

Разова спеціалізована вчена рада Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, м. Харків прийняла рішення про присудження ступеня доктора філософії у галузі знань 09 Біологія на підставі прилюдного захисту дисертації «Оцінка імунологічних механізмів після дії комплексних екзогенних факторів (фотоопромінювання, екзосом, наночастинок) на експериментальній моделі запалення» за спеціальністю 091 Біологія.

17 січня 2024 року.

Биченко Катерина Олексіївна 1982 року народження, громадянка Росії, освіта вища: закінчила 2016 року Національний фармацевтичний університет за спеціальністю 226 - фармація. Працює молодшим науковим співробітником у ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії ім. В.Т. Зайцева» НАМН України з 2012 р. до цього часу.

Дисертацію виконано у Харківському національному університеті імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, м. Харків

Науковий керівник Клімова Олена Михайлівна, доктор біологічних наук, професор, Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна

Здобувачка має 23 наукові публікації за темою дисертації, з них 0 статей у періодичних наукових виданнях інших держав, 8 статей у наукових фахових виданнях України, 0 монографій:

1. Klimova E. M., Bozhkov A. I., Bychenko E. A., Lavinskaya E. V., Zholobak N. M., Korobov A. M. Characteristics of the response of the microalga (*Dunaliella viridis*) for cerium compounds in culture. *Biosystems Diversity*. 2019. Vol. 27(2). P. 142–147.
2. Клімова О. М., Коробов А. М., Биченко К. О., Лавінська О. В., Кордон Т. І., Дроздова Л. А. Вплив низько інтенсивного випромінювання оптичного діапазону спектру на показники імунорезистентності у тварин з експериментальним перитонітом. *Вісник КНУ ім. Т. Шевченко. Серія «Біологія»*. 2020. № 3(82). С. 35–42.
3. Клімова О. М., Биченко К. О. Дослідження на різних моделях біологічних ефектів компонентів комплексного впливу (фотоопромінювання; екзосоми мезенхімальних стовбурових клітин та наночастинок) для корекції запального процесу. *Вісник ОНУ ім. І. І. Мечникова. Серія «Біологія»*. 2023. Т. 28, № 1(52). С. 118–135.

У дискусії взяли участь голова і члени разової спеціалізованої вченої ради та присутні на захисті фахівці:

Голова Берест В.П., доктор фізико-математичних наук (спеціальність 03.00.02 – біофізика), доцент кафедри біологічної та медичної фізики, Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, завідувач кафедри молекулярної і медичної біофізики факультету радіофізики, біомедичної електроніки та комп'ютерних систем

Зауваження: немає.

Питання:

1. У роботі для корекції запальних станів використано опромінення світлом різних довжин хвиль і продемонстровано хроматоспецифічність терапевтичного ефекту. Який механізм дії світла ви припускаєте? Чому невелика відмінність енергетичних характеристик

опромінення веде до різних терапевтичних ефектів? Чи можуть ваші результати "пролити світло" на природу первинних акцепторів фотоопромінення?

2. На вашу думку, чи можна та чи варто використовувати екзосоми для інкапсуляції та спрямованої доставки наночастинок діоксиду церія?

3. Чому, на вашу думку, розмір наночастинок діоксиду є вирішальним для клітинних ефектів щодо досліджених мікроорганізмів?

Рецензент Авксентьєва О.О., кандидат біологічних наук (спеціальність 03.00.12 - фізіологія рослин), доцент, доцент кафедри фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів біологічного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна

Зауваження:

1. В роботі відповідно до третьої експериментальної моделі дослідження проведено та представлено результати значного обсягу експериментів стосовно визначення ступеню цитотоксичності наночастинок церію за багатьма критеріями – вільний стан чи в у вигляді оксиду, розмір наночастинок, концентрація, взаємодія з сироваткою. Визначено оптимальні показники за цитотоксичністю для наночастинок церію для їх подальшого використання. Але з тексту дисертаційної роботи не зрозуміло, чи проводились попередні дослідження з визначення впливу наночастинок церію як цитопротекторів, антиоксидантів та активаторів мікроциркуляції для корекції запального процесу. На якій стадії хронічного запального процесу ефективніше використовувати комплексну дію фотоопромінювання та наночастинок церію?

2. В тексті дисертаційної роботи постійно вживаються терміни запальний процес, запальна реакція, хронічний, локальний, індукований, модельний запальний процес – можливо було б доцільно надати визначення цим термінам, провести їх диференціацію та внести у список скорочень.

3. В тексті роботи є невелика кількість описок, стилістичних помилок та так званих «русизмів».

Питання:

1. Чому спектри з максимумами на різних довжинах хвиль різним чином впливають на певні стадії запального процесу?

2. У чому перевага застосування екзосом стовбурових клітин у порівнянні з використанням безпосередньо культури стовбурових клітин?

3. Чому ефективну дію екзосоми проявляють сумісно з опроміненням зеленим світлом? Це якесь теоретичне припущення, чи проводились експериментальні дослідження сумісної дії червоного світла та екзосом, синього світла та екзосом?

4. Чому вивчали серед великого різноманіття наночастинок саме наночастинок церію? У чому їх можлива роль в корекції запального процесу?

5. Чи є експериментальні підтвердження використання тест-системи *D. viridis* екстрапольовані на тваринні клітини?

Опонент Іонов І.А., доктор сільськогосподарських наук (спеціальність 03.00.13 – фізіологія людини і тварин), професор, член-кореспондент НААН України (спеціальність 03.00.13 – фізіологія людини і тварин), професор кафедри анатомії та фізіології людини імені доктора медичних наук, професора Я. Р. Синельникова Харківського національного педагогічного університету імені Г.С. Сковороди

Зауваження: немає.

Питання:

1. Яка цінність, при такому багатому клінічному матеріалі, де продемонстровано позитивний вплив на хронічні запальні процеси, ваших досліджень на тваринах?
2. З якою метою для комплексної корекції запального процесу в клініці застосовують наночастинки?
3. Наведіть принциповий механізми впливу екзосом?
4. У Ваших дослідженнях використовувалися інші клітинні мішені після фотовпливу?

Опонент Сибірна Н.О., доктор біологічних наук (спеціальність 03.00.04 – біохімія), професор кафедри біохімії, завідувачка кафедри біохімії біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка

Зауваження та запитання:

1. В якості джерела екзосом використовували культуру мультипотентних мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) плаценти. В роботі сказано: «Використання даного способу дозволило отримати і концентрувати мікроРНК, що містять екзосоми МСК для стимуляції регенеративних процесів в короткі терміни». Ніде в подальшому в роботі про мікроРНК не йдеться. Чому? Це дуже цікаво оцінити, які саме гени були таргетними для даної мікроРНК? Чи є дані про нуклеотидну послідовність цієї мікроРНК? Чи вона там представлена в одному варіанті?
2. Щодо чіткості викладу наукових даних без лабораторного сленгу, потрібно звернути увагу на назву підрозділу 2.8 *Визначення ступеня лімфоцитотоксичності*. Термін «лімфоцитотоксичність» має кілька трактувань, тому у даному випадку потрібно було вказати, що мова йде про «лімфоцитотоксичність аутосеруватки», яка діяла на лімфоцити у присутності білків комплементу, а не цитотоксичність самих лімфоцитів. Проводили дослідження з використанням класичного методу Тerasaki, тобто тест на лімфоцитотоксичність аутосеруватки, яка містила відповідні антитіла.
3. Хочу звернути увагу автора на прецизійність наведення статистичної обробки даних. Так як для оцінки вірогідності різниці між статистичними характеристиками двох альтернативних сукупностей даних обчислювали коефіцієнт Стюдента, то слід оперувати наступними величинами: наприклад, достовірною вважається різниця при показах вірогідності $p \geq 0,95$, а рівень значимості при цьому $P < 0,05$, які знаходяться після обчислення t за таблицею t -розподілу Стюдента. В дисертації скрізь наведено $p < 0,05$ (маленька буква p , а це - помилка).
4. Висновки носять констатуючий характер і не наводять жодного механізму формування того, чи іншого біологічного ефекту, який фіксувався в експериментах.
5. Шкода, що в дисертації не представлена узагальнююча схема дії досліджуваних чинників. Вона, без сумніву, була б дуже корисною для інтерпретації отриманих результатів, де можна було б вказати гіпотетичні і експериментально підтверджені точки впливу застосованих речовин і уявити собі біохімічні механізми їхньої дії.
6. У роботі часто зустрічаються стилістичні помилки, а також невдалі у мовному та науковому сенсі вирази.
7. З якою метою у власних результатах дисертантка наводить Рис. 3.42 – фото заживлення виразки на нозі у людини?

Опонент Книш О.В. доктор медичних наук (спеціальність 03.00.07 - мікробіологія), старший дослідник зі спеціальності 222 Медицина, провідний науковий співробітник лабораторії та клінічного відділу молекулярної імунофармакології Державної установи «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова» НАМН України»

Зауваження:

1. Текст дисертації, особливо Розділ 4 «Обговорення результатів» перевантажений громіздкими, складними для сприйняття реченнями, які можна було б спростити або розділити на декілька простих та зрозумілих. Також текст містить невелику кількість калькованих конструкцій, замість яких доцільніше було б вживати українські відповідники.
2. У розділі «Матеріали і методи» бажано було б надати:
 - a. посилання на більш новий міжнародний нормативний документ, «Директиву Євросоюзу 2010/63/ЄС з охорони тварин, які використовуються в експериментальних та інших цілях»;
 - b. назву оптичного приладу, за допомогою якого проводили мікроскопічні дослідження;
 - c. більш детальний опис способу виявлення однієї з ознак цитотоксичного ефекту, яку враховували при розрахунку коефіцієнтів цитотоксичності солей та наночастинок церію – «виділення екзометаболітів».
3. Слід зазначити, що автором застосовано загальноприйнятий, адекватний поставленим задачам метод оцінки фагоцитарної активності нейтрофілів за фагоцитарним індексом (характеризує інтенсивність фагоцитозу), фагоцитарним числом (характеризує поглинальну здатність) та індексом завершеності фагоцитозу (характеризує перетравлюючу здатність). Однак при прочитанні параграфу 2.5 «Фагоцитарна активність нейтрофілів в кисненезалежному фагоцитозі» (с. 68) недостатньо зрозумілими здаються твердження: «фагоцитарну активність нейтрофілів визначали за хемотаксисом, адгезією і ендоцитозом антигену»; «хемотаксис оцінювали за показником фагоцитарного індексу» та «ендоцитоз оцінювали за показником індексу завершеності фагоцитозу», які бажано було б пояснити і розширити при подальшому описі та обговоренні результатів дослідження фагоцитарної активності нейтрофілів.

Питання:

1. Чим обумовлений вибір діапазону концентрацій солей і наночастинок церію?
2. Чому для дослідження цитотоксичності солей і наночастинок церію як клітинний біоіндикатор обрано водорість *Dunaliella viridis*? Чи можуть результати, отримані при застосуванні цього біоіндикатора, бути екстрапольовані на клітини тварин і людини?
3. Чи відомий точний склад задіяної у дослідженнях суспензії екзосом МСК плаценти та вміст у екзосомах тих чи інших біологічно активних речовин?
4. Якими ефектами фотоопромінювання можна пояснити отриману в експерименті значно меншу втрату маси тіла тварин у групах з ЛПС-індукованим перитонітом, які піддавалися впливу зеленого і синього світла, ніж у групах тварин з перитонітом без світлового впливу та підданим впливу червоного світла?

Результати відкритого голосування:

"За" 5 членів ради,
 "Проти" 0 членів ради,
 "Утримались" 0 членів ради

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

Голова разової спеціалізованої вченої ради



Берест В.П.