

Голові разової спеціалізованої вченої ради  
Харківського національного  
університету імені В. Н. Каразіна  
професору ЗВО  
кафедри фізіології людини та тварин  
біологічного факультету,  
професору БОНДАРЕНКО Тетяні  
майдан Свободи 4, м. Харків, 61022

## ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук (спеціальність — 14.03.05 Фармакологія), професора, професора ЗВО кафедри фармакології та фармакотерапії Національного фармацевтичного університету ДЕРИМЕДВІДЬ Людмили Віталіївни на дисертаційну роботу Москальова Віталія Борисовича «Одержання та оцінка біологічної активності екзометаболітів мезенхімальних стовбурових клітин», подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 – Біологія за спеціальністю 091 – Біологія

### 1. Обґрунтування вибору теми дослідження

21 сторіччя об'явлено сторіччям стовбурових клітин, а мезенхімальні стромальні клітини на сьогодні є найбільш використаними у медичній практиці. Тому тема даної дисертації безумовно є актуальним завданням сучасної біології та медицини. Кістковий мозок залишається головним джерелом отримання МСК. Але лише 0,01 % ядровмісних клітин здібні прикріплюватися до пластику та створювати колонії. Оскільки кількість СК мала то є необхідність в розробці підходів щодо можливостей їх розмноження в умовах *in vitro*. З кожним роком накопичується матеріал щодо можливості МСК диференціюватися не тільки в мезодермальному напрямку, але і в напрямку міобластів, кардіоміоцитів. Нейронів і гепатоцитів. Тому тема, мета і завдання даної дисертації не мають сумнівів. Звісно, що МСК синтезують SDF-1 – цитокин, що приймає участь у хомингу гемопоетичних СК, тому завдання даної роботи щодо можливості секретом МСК кісткового мозку для лікування патологій печінки може бути корисним для розробки нових протоколів для медичної практики.

Вивчення взаємодії мезенхімальних стовбурових клітин з регіональними стовбуровими та імунокомпетентними клітинами та наслідків такої взаємодії

на рівні тканини, органу та організму є важливою проблемою фізіології людини та тварин.

Печінка ссавців добре відома своєю високою здатністю до репаративної регенерації – повне відновлення об'єму органу можливе за резекції двох його третин. Але на відмінну від постійно функціонуючих ліній, стовбура система печінки є факультативною, тобто вона не вносить суттєвий внесок у постнатальне зростання органу та різноманітні реакції регенеративних процесів. Тому впродовж всього життя організму залишається «дрімотною популяцією». СК печінки починають працювати у напрямку збільшення кількості гепатоцитів тільки у випадку мозаїчних ушкоджень печінки коли їм на допомогу приходять СК кісткового мозку завдяки однаковому походженню печінки та кісткового мозку з одного зародкового листку. Тож важливо вивчати вплив регенеративних чинників у моделях, які б відтворювали саме такий тип пошкодження.

Таким чином поставлені в роботі завдання можуть розширити наші уявлення щодо питань фізіологічної регуляції репараційних процесів у печінки за допомогою медіаторних молекул з секретом МСК мозку.

## **2. Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому і оформлення**

Робота складається зі вступу, 3 розділів, висновків, списку використаних джерел та 1 додатку. Обсяг загального тексту дисертації складає 155 сторінок, з них основного тексту – 130 сторінок. Робота ілюстрована 30 рисунками та 17 таблицями. Список використаних літературних джерел містить 170 найменувань.

У **вступі** обґрунтовано вибір теми дисертаційного дослідження, окреслено мету, об'єкт і предмет дослідження, основні завдання, наведено наукову новизну і практичне значення отриманих результатів, названо методи, які були використані в даній роботі, зазначено особистий внесок здобувача.

У **першому розділі** надано огляд сучасних літературних джерел з обраної наукової проблеми. Розглянуто біологічні властивості мезенхімальних стовбурових клітин, відомі на сьогодні. Особливу увагу було привернуто до фізіологічних механізмів регенеративних процесів за рахунок активації регіональних стовбурових та/або прогеніторних клітин та опосередкування імунною системою (зниження запалення, модуляція імунної функції). Розділ відповідає вимогам до оформлення дисертації, написано гарною мовою з використанням сучасних наукових джерел інформації (наприклад, майже 16 % цитованої літератури належить до останніх 5 років,

у тому числі і 2023 р.), що свідчить на користь достатніх знань у сфері проблеми, якою займався автор при виконанні дисертаційної роботи,

**Другий розділ** включає викладення матеріалів та методів, що були використані у дослідженні.

У **третьому розділі** викладені результати досліджень та здійснено їх обговорення. У першій частині розділу надано характеристику секретому мезенхімальних стовбурових клітин та обґрунтовано спосіб його одержання. Найбільш вагомими результатами розділу 3.1. є дані щодо визначення пасажей культивування МСК собак, які мають ознаки піку зростання та секреції біологічно активних речовин. Ці нововиділені клітини можна тривало зберігати за умов низькотемпературних технологій та можливо використовувати для створення нових технологічних розробок.

У другій частині розділу розглянуті ефекти впливу секретому мезенхімальних стовбурових клітин на регенерацію печінки на моделях *in vitro*, *in vivo* та *ex vivo*. Найбільш цікавими, на наш погляд, мають дані, щодо виявлення позитивного ефекту секретом МСК у концентрації 100 мкл/100 г маси тіла тварин після 3 разів введення тваринам.

В розділі 3.3 приведені результати дослідження, присвячені імунотропним ефектам секретому мезенхімальних стовбурових клітин на перебіг запалення, вироблення антитіл та клітинні реакції імунітету. Найбільш вагомими результатами цього розділу є визначення доз введення секретом МСК тваринам, дія яких була позитивною на двох моделях патологій, а її ефективність залежала від шляху введення.

**Висновки** за результатами виконання дисертаційної роботи підкреслюють наукову новизну та практичну цінність проведених досліджень..

**Список використаних джерел** свідчить про детальний аналіз сучасної наукової літератури за проблемою дослідження.

### **3. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.**

Дисертаційна робота виконана на кафедрі молекулярної біології та біотехнології біологічного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна згідно плану науково-дослідної роботи кафедри за напрямом: «Дослідження у сфері клітинних та імунобіотехнологій з метою отримання біологічно активних фармацевтичних субстанцій для використання у біотехнології та медицині».

#### **4. Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.**

Обґрунтованість і достовірність представлених результатів підкріплені експериментальними дослідженнями та забезпечується: застосуванням адекватних експериментальних моделей та статистичних методів до отриманих даних; порівнянням одержаних результатів із сучасною науковою літературою інших авторів; публікацією результатів дисертаційного дослідження в наукових виданнях високого рівня; достатньою апробацією отриманих результатів на наукових конференціях.

#### **5. Основні наукові результати, одержані автором, та їх новизна.**

Основні наукові результати та висновки дисертації відображено в публікаціях у фахових та міжнародних наукових виданнях. За результатами дисертаційного дослідження опубліковано 9 наукових праць, серед яких: 3 публікації у періодичних виданнях, що входять до міжнародної наукометричної бази Scopus (Q3, Q4), 1 - у фаховому виданні категорії Б та 5 тез доповідей на фахових наукових конференціях. В 1 статті дисертант є першим автором, 2 статті – одноосібні.

Дисертант отримав наступні наукові результати:

Запропоновано спосіб одержання компонентів секретому мезенхімальних стовбурових клітин, заснований на методі ультрафільтрації.

Показано, що низькомолекулярна фракція екзометаболітів мезенхімальних стовбурових клітин (до 10 кДа) має найбільший вплив на регенеративні процеси печінки.

Було встановлено, що екзометаболіти мезенхімальних стовбурових клітин активують гуморальну ланку імунітету та забезпечують незначну супресію клітинної ланки імунітету та пригнічення запалення.

#### **6. Практичне значення отриманих результатів.**

В роботі описано спосіб одержання екзометаболітів мезенхімальних стовбурових клітин та їх фракцій, розділених за масою, та оцінені ефекти їх дії на перебіг фібротичних процесів у печінці, запалення та імуноотропні властивості на експериментальних тваринах та моделях *in vitro*, *ex vivo*. Одержані в роботі результати можуть бути використані для пояснення загальних механізмів регенерації, впроваджені до освітнього процесу студентів біологічного, біотехнологічного, медичного та фармацевтичного

спрямовування, а також можуть бути використанні для розробки фармакологічних субстанцій, спрямованих на відновлення функції печінки.

## **7. Дискусійні положення та зауваження до змісту дисертації**

1. У розділі «Вступ» термін «фібротична печінка» не коректний.
2. У розділі «Огляд літератури» назву підрозділу 1.1.4. Уявлення про пептидну регуляцію – наш погляд, було б доцільно надавати більш конкретно. Наприклад «Біологічні ефекти низькомолекулярних пептидів, що секретуються мезенхімальними стовбуровими клітинами». 1.2.2. Запалення та регенерація, більш оптимальним було б «Вплив мезенхімальних стовбурових клітин на перебіг запальних та регенераторних процесів». Також доцільно в кінці розділу було б надати міні-узагальнення, наприклад «На підставі наведених даних щодо фізіологічних механізмів регенеративних процесів за рахунок активації регіональних стовбурових та/або прогеніторних клітин та опосередкування імунною системою (зниження запалення, модуляція імунної функції) перспективним напрямком є дослідження біологічних ефектів фракцій екзометаболітів неактивованих мезенхімальних стовбурових клітин.
3. У розділі «Матеріали та методи» недостатньо повно описано методику кріоконсервування мезенхімальних стовбурових клітин. Також не достатньо пояснено, яким чином досягається елімінація ефекту печінкових стовбурових клітин на результат дослідження на моделі органотипової культури печінки.
4. У розділі «Матеріали та методи» не повністю обґрунтовано використання моделей фіброзу печінки з позиції мозаїчного пошкодження печінки, за якого порушується регенерація. В цьому розділі у висновках Ви кажете про розробку методу отримання, але тоді повинен бути або патент на винахід, або патент на корисну модель
5. У розділі «Результати досліджень та їх обговорення» недостатньо детально обговорено клітинний склад популяції мезенхімальних стовбурових клітин, зокрема, овальних клітин. При обговоренні результатів досліджень мало посилань на літературу. Так, зі 170 джерел цитованої літератури для обговорення залучено тільки 27. Хотілось би більш детального обговорення отриманих результатів досліджень.
6. У розділі «Висновки» повині бути підтверджено фактичним матеріалом із вказанням вірогідності.

Крім того, є деякі питання, які хотілось б поставити у межах наукової дискусії:

1. Яким чином досягалась поступовість охолодження клітин під час кріоконсервування?

2. Чи могли стовбурові клітини печінки спотворити результати одержані на органотиповій культурі. Як цього уникали?

3. Чи належить фіброз до мозаїчного пошкодження печінки? Обґрунтуйте.

4. Що Вам відомо про овальні клітини серед популяції мезенхімальних стовбурових клітин? Чи мають вони спільне походження з овальними клітинами печінки?

Вказані недоліки не зменшують якість результатів дисертаційної роботи і обґрунтованість наведених здобувачем висновків.

## **8. Загальні висновки щодо дисертаційної роботи.**

Дисертаційна робота Москальова Віталія Борисовича «Одержання та оцінка біологічної активності екзометаболітів мезенхімальних стовбурових клітин» є завершеною науковою працею, яка відповідає вимогам наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження Вимог до оформлення дисертацій» (з наступними змінами) та «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 № 44 від 12.01.2022 р., а її автор Москальов Віталій Борисович заслуговує присудження йому ступеня доктора філософії з галузі знань 09 – «Біологія» за спеціальністю 091 – «Біологія».

### **Офіційний опонент**

професор ЗВО кафедри фармакології та фармакотерапії  
Національного фармацевтичного університету  
д. мед. н., професор

Людмила ДЕРИМЕДВІДЬ

Онлайн сервіс створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

ПРОТОКОЛ  
створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

Дата та час: 10:00:30 22.12.2023

Назва файлу з підписом: Відгук Москальов В.Б..pdf.asice  
Розмір файлу з підписом: 379.4 КБ

Перевірені файли:  
Назва файлу без підпису: Відгук Москальов В.Б..pdf  
Розмір файлу без підпису: 390.2 КБ

Результат перевірки підпису: Підпис створено та перевірено успішно. Цілісність даних підтверджено

Підписувач: ДЕРИМЕДВІДЬ ЛЮДМИЛА ВІТАЛІЇВНА  
П.І.Б.: ДЕРИМЕДВІДЬ ЛЮДМИЛА ВІТАЛІЇВНА  
Країна: Україна  
РНОКПП: 2476500945  
Організація (установа): ФІЗИЧНА ОСОБА  
Час підпису (підтверджено кваліфікованою позначкою часу для підпису від Надавача): 10:00:25  
22.12.2023  
Сертифікат виданий: АЦСК АТ КБ «ПРИВАТБАНК»  
Серійний номер: 248197DDFAB977E5040000009FCAC100DFAF1504  
Алгоритм підпису: ДСТУ-4145  
Тип підпису: Удосконалений  
Тип контейнера: Підпис та дані в архіві (розширений) (ASiC-E)  
Формат підпису: З повними даними для перевірки (XAdES-B-LT)  
Сертифікат: Кваліфікований

Голові разової спеціалізованої вченої ради  
Харківського національного  
університету імені В. Н. Каразіна  
в.о. завідувача, професору ЗВО  
кафедри фізіології людини та тварин  
біологічного факультету,  
професору БОНДАРЕНКО Тетяні  
Майдан Свободи 4, м. Харків, 61022

## РЕЦЕНЗІЯ

офіційного рецензента кандидата біологічних наук (03.00.04 Біохімія), доцента, доцента кафедри біохімії біологічного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна КОТА Юрія Григоровича на дисертаційну роботу Москальова Віталія Борисовича «Одержання та оцінка біологічної активності екзометаболітів мезенхімальних стовбурових клітин», подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 – Біологія за спеціальністю 091 – Біологія

### **Актуальність теми**

Дисертація присвячена дослідженню біологічних ефектів екзометаболітів неактивованих мезенхімальних стовбурових клітин на фібротичну печінку та імунологічних механізмів цих ефектів.

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я на 2023 рік, хронічні захворювання печінки є основним глобальним тягарем для здоров'я і є причиною приблизно 2 мільйонів смертей на рік у всьому світі. При цьому частка пацієнтів із тяжким фіброзом або цирозом печінки, які не мають симптомів (компенсованою прогресуючою хронічною хворобою печінки – сACLD) варіює в світі від 9 до 24%.

Відомо, що печінка володіє високою здатністю до регенерації, в умовах інтенсивного фіброзу, відновлення пошкодженої тканини відбувається неефективно. Сучасні гепатопротектори здатні посилювати регенерацію, але такий ефект є тимчасовим, їх біологічної активності не завжди вистачає для гальмування розвитку патологічних процесів та нормалізації структури і функції ураженої тканини. Пошук сполук та їх композицій, які мають прями або опосередковані протизапальні властивості та здатні ефективно сприяти регенерації печінки є на сьогодні важливою задачею біохімії, молекулярної біології та біотехнологій. У зв'язку з цим, актуальність теми дисертації



Москальова Віталія Борисовича «Одержання та оцінка біологічної активності екзометаболітів мезенхімальних стовбурових клітин» не викликає сумнівів.

## **Структура, обсяг і зміст дисертації**

Дисертація написана грамотною українською мовою з дотриманням норм наукового стилю і складається з анотацій українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, розділів, в яких надані відомості про матеріали і методи дослідження, а також представлені та обговорені отримані результати, висновки, та список наукових праць здобувача (додаток 1). Робота викладена на 157 сторінках друкованого тексту, містить 30 рисунків та 17 таблиць, 170 посилань на цитовані джерела наукової літератури.

Вступ містить усі необхідні підрозділи, які чітко відображають обґрунтування вибору теми дослідження здобувачем, мету та завдання дослідження, зв'язок роботи з науковими планами кафедри молекулярної біології та біотехнології біологічного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, наукову новизну та практичне значення отриманих результатів, особистий внесок дисертанта та публікації за матеріалами дисертаційної роботи.

Огляд літератури розкриває сучасний стан проблем, вирішення яких стало основними завданням дисертанта. Розділ висвітлює відомі на тепер дані про біологічні властивості мезенхімальних стовбурових клітин та регенеративні процеси під дією мезенхімальних стовбурових клітин. Особливо дисертант робить акцент на проблематиці механізмів дистантної (опосередкованої через біологічно активні молекули) та контактної дії мезенхімальних стовбурових клітин, їх імуноотропних, протизапальних та регенеративних активностей. Огляд літератури базується як на публікаціях за останні три роки (2020 – 2023), так і на наукових працях, що є першоджерелами у формуванні уявлень про потенціал застосування мезенхімальних стовбурових клітин у експериментальній біомедицині. Це дозволило дисертанту чітко простежити сучасні розробки, їхні недоліки, а також існуючі тенденції та перспективи за обраною темою дисертаційного дослідження, обґрунтувати актуальність теми дослідження та показати доцільність виконання дисертаційної роботи в обраному напрямку.

Структура та стиль викладення розділу «Матеріали та методи» зручні для сприйняття і не викликають зауважень. В розділі охарактеризовано дизайн проведеного експериментального дослідження, включаючи опис моделей та етапів. Обґрунтовано використання технік роботи з культурою мезенхімальних стовбурових клітин. Описано методи одержання, фракціонування та оцінки складу екзометаболітів мезенхімальних стовбурових клітин. Обґрунтовано застосування моделей *in vitro*, *in vivo* та *ex vivo*, контрольовані показники, кількість груп та тварин у групі. Описано алгоритм статистичного аналізу

виявлених відмінностей між групами. Найважчий в розділі ілюстративний матеріал надає змогу додатково оцінити описані методичні підходи. Усі маніпуляції з тваринами проводились з урахуванням вимог чинного міжнародного законодавства з біоетики та узгоджувалися комісією з біоетики на засіданні кафедри молекулярної біології та біотехнології ХНУ ім. В. Н. Каразіна. За матеріалом розділу «Матеріали та методи» маю певні питання та зауваження, які зазначаю на сторінці 5 рецензії.

Основну частину роботи складає розділ «Результати досліджень та їх обговорення», в якому дисертант описує результати власних досліджень – загальна характеристика, гепатотропні ефекти та імунотропні ефекти секретому мезенхімальних стовбурових клітин. Результати графічної та математичної обробки експериментальних даних представлено у вигляді фотографій, рисунків та таблиць. Опис та обговорення результатів у кожному підрозділі завершується висновками та переліком публікацій за матеріалом, обговореним у цьому підрозділі. Наприкінці розділу «Результати досліджень та їх обговорення» дисертант узагальнив всі отримані ним дані. За матеріалом розділу «Результати досліджень та їх обговорення» маю певні зауваження та пропозиції, які зазначаю на сторінці 5 рецензії.

Список використаних джерел містить 170 публікацій, з них 14% опубліковані за останні три роки (2020 – 2023).

### **Обґрунтованість наукових положень та висновків**

Зроблені автором дисертації висновки логічно та обґрунтовано витікають з наведених результатів, а сама виконана дисертаційна робота є доцільною.

### **Достовірність одержаних результатів, їх новизна і практичне значення**

Достовірність результатів дисертації досягнута за рахунок використання сучасних методів – кріозберігання та культивування клітин ссавців (виділення, накопичення, кріоконсервування та деконсервування мезенхімальних стовбурових клітин, експрес-тестування біологічної активності *in vitro*), органотипової культури печінки (адгезія, індекс площі), спектрофотометричних (визначення концентрації білку, аналіз спектрів поглинання в ультрафіолетовому діапазоні), моделювання фіброзу *in vivo*, біохімічних (визначення окремих цитокінів та ростових факторів, активності амінотрансфераз), гематологічних (автоматичний аналіз кількості та якості клітин крові в нормі та за фіброзу), імунологічних (визначення показників гуморального та клітинного імунітету, інтенсивності запалення), статистичних. Застосовані в роботі методичні прийоми та сучасне обладнання адекватні до поставлених завдань та дали змогу виконати

дисертацію на високому науково-методичному рівні. Дані проаналізовані із застосування адекватних методів статистичної обробки.

Новизна отриманих результатів полягає у тому, що дисертантом продемонстровано, що найбільшу активацію регенеративних процесів печінки забезпечує низькомолекулярна фракція екзометаболітів мезенхімальних стовбурових клітин масою менше 10 кДа, яка виявляє антифібротичні, детоксикаційні та антианемічні ефекти, обумовлені, вірогідно, пептидною регуляцією активності стовбурових клітин організму, опосередкованою імунними клітинами. Показано, що екзометаболіти ксеногенних мезенхімальних стовбурових клітин значно активують гуморальну ланку імунітету за рахунок системних впливів на центральні органи імунної системи та забезпечують менш значну супресію клітинних реакцій та зниження запалення через паракринні механізми.

Практичне значення одержаних результатів полягає у тому, що вони можуть бути використані для поглиблення розуміння механізмів дії мезенхімальних стовбурових клітин; в освітньому процесі – під час викладання таких освітніх компонентів як «Біологія клітини», «Імунологія», «Загальна біотехнологія», «Фармацевтична біотехнологія», а також для розробки нових фармакологічних субстанцій.

### **Особистий внесок здобувача, повнота викладу отриманих результатів у публікаціях**

Всі дослідження, результати яких представлені у дисертаційній роботі, виконано особисто або за безпосередньої участі здобувача. Автором дисертаційної роботи самостійно проведено пошук та аналіз наукових джерел, виконано основну частину експериментальної роботи, здійснено статистичний аналіз одержаних результатів, а також апробацію результатів на всеукраїнських та міжнародних конференціях. Планування експериментальних досліджень, аналіз та обговорення отриманих даних, підготовка рукописів статей проводилося спільно з науковим керівником. Всі розділи дисертації написані автором самостійно.

Основні та додаткові положення дисертації було апробовано на семінарах кафедри молекулярної біології та біотехнології біологічного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Результати досліджень було також представлено на 5ти фахових конференціях. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 4 статті: 1 стаття у міжнародному виданні з квантилем Q3 (Journal of Clinical and Experimental Hepatology), 2 статті у міжнародних виданнях з квантилем Q4 (WikiJournal of Medicine та Revista Bionatura), а також 1 стаття у вітчизняному фаховому виданні категорії Б (Біорізноманіття, екологія та експериментальна біологія).

## Питання, зауваження та пропозиції для обговорення

### *Питання:*

1. Враховуючі наявні в науковій літературі дані, вибір дисертантом собак в якості тварин-донорів мезенхімальних стовбурових клітин з метою культивування клітин та отримання їх секретому з потенційними антизапальними та прорегенераційними властивостями є цілком зваженим і виправданим. Але чому в якості тварин-донорів мезенхімальних стовбурових клітин дисертант вибрав безпородних собак? Яких фактор був ключовим для такого вибору? Чи обговорювався при плануванні експерименту варіант використання собак певної породи, враховуючи відомі факти щодо різниці в максимальному числі поділів та інтенсивності проліферації мезенхімальних стовбурових клітин з кісткового мозку собак різних порід?

2. В розділі «Матеріали та методи» дослідження не зазначено ветеринарну клініку, на базі якої утримувались собаки-донори та був здійснений забір кісткового мозку. З якою ветеринарною клінікою співпрацював дисертант і на якій підставі здійснювалось співробітництво?

3. Дисертант зазначає що клітини культивували за температури 37°C із 5 % CO<sub>2</sub> в атмосфері. А якою була відносна вологість повітря в камері інкубатора?

4. Враховуючи походження первинних мезенхімальних стовбурових клітин, чи проводився аналіз культивованих клітин на контамінацію мікоплазмами?

5. Чому для культивування мезенхімальних стовбурових клітин з кісткового мозку дисертант використовував середовище DMEM, а не більш адаптоване до культивування цього типу клітин середовище  $\alpha$ -MEM? Використане середовище DMEM та сироватка FBS були адаптовані виробником для культивування мезенхімальних стовбурових клітин (були марковані як MSC-Qualified)?

6. Чи впевнений дисертант, що первинні мезенхімальні стовбурові клітини, одержані з біоптатів кісткового мозку тварин-донорів, характеризувались однаковою гетерогенністю за стадіями клітинного циклу? Чи проводилась синхронізація клітин в різних експериментальних групах при першому пасажі?

### *Зауваження та пропозиції:*

1. При описі параметрів центрифугування зазначаються одиниці вимірювання частоти обертання ротору як «об/хв». Використання такої одиниці вимірювання вважається некоректним, оскільки робить неможливим відтворення методики за потреби через залежність зазначених «об/хв» від радіусу ротора конкретної моделі центрифуги. Зазначення конкретної моделі центрифуги є недостатнім, оскільки для розрахунків величини «g» з «rpm» (rotor per minute, об/хв) необхідно знати радіус ротора певного типу «r», який використовувався,  $g = 11.18 \times r \times (\text{rpm}/1000)^2$ , а тип ротора не є стандартним у

конкретної моделі центрифуги. Рекомендую, за можливості, перерахувати «об/хв» у універсальну одиницю вимірювання частоти обертання ротору «g».

2. Обговорюючи метаболіти, які поглинають світло з довжиною хвилі 340 нм, дисертант не згадує НАДН, який має характеристичний максимум поглинання світла саме при цій довжині хвилі та регулює за аутокринним механізмом секрецію цитокінів мезенхімальними стовбуровими клітинами.

3. Загально визнаним стандартом наведення даних, отриманих методом проточної цитометрії, є формати «histogram», «dot plot (quadrant)» та «dot plot (gate)». Зазначення лише кінцевого результату у % вважається недостатнім, оскільки не дає змогу інтерпретації отриманих результатів з оглядом на гетерогенність клітин за їх рівнем експресії поверхневих маркерів. Вважаю необхідним, за можливості, доповнити таблицю 3.5 одним з вищезазначених форматів відображення даних або долучити їх як додаток до відповідного розділу.

4. В дисертації зустрічаються поодинокі граматичні та стилістичні помилки.

### **Загальний висновок**

Зауваження до дисертаційної роботи не зменшують її теоретичного та практичного значення. Пропозиції носять рекомендаційний характер.

Враховуючи зазначене, вважаю, що дисертаційна робота Москальова Віталія Борисовича «Одержання та оцінка біологічної активності екзометаболітів мезенхімальних стовбурових клітин» відповідає вимогам наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження Вимог до оформлення дисертацій» (з наступними змінами) та «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 № 44 від 12.01.2022 р., а її автор Москальов Віталій Борисович заслуговує присудження йому ступеня доктора філософії з галузі знань 09 – «Біологія» за спеціальністю 091 – «Біологія».

**Офіційний рецензент,**  
доцент кафедри біохімії  
біологічного факультету  
Харківського національного  
університету імені В. Н. Каразіна,  
кандидат біологічних наук, доцент

Юрій КОТ

Онлайн сервіс створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

ПРОТОКОЛ

створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

Дата та час: 13:18:43 25.12.2023

Назва файлу з підписом: Рецензія Москальов ВБ\_рецензент Кот ЮГ.pdf.asice

Розмір файлу з підписом: 177.8 КБ

Перевірені файли:

Назва файлу без підпису: Рецензія Москальов ВБ\_рецензент Кот ЮГ.pdf

Розмір файлу без підпису: 181.1 КБ

Результат перевірки підпису: Підпис створено та перевірено успішно. Цілісність даних підтверджено

Підписувач: Кот Юрій Григорович

П.І.Б.: Кот Юрій Григорович

Країна: Україна

РНОКПП: 3025810292

Час підпису (підтверджено кваліфікованою позначкою часу для підпису від Надавача): 13:18:40 25.12.2023

Сертифікат виданий: КНЕДП АТ "УКРСИББАНК"

Серійний номер: 4723196C41B46DB6040000005F6A0300594D0E00

Алгоритм підпису: ДСТУ-4145

Тип підпису: Удосконалений

Тип контейнера: Підпис та дані в архіві (розширений) (ASiC-E)

Формат підпису: З повними даними для перевірки (XAdES-B-LT)

Сертифікат: Кваліфікований

Голові разової спеціалізованої вченої ради  
Харківського національного  
університету імені В. Н. Каразіна  
в.о. завідувача, професору ЗВО  
кафедри фізіології людини та тварин  
біологічного факультету,  
професору БОНДАРЕНКО Тетяні  
майдан Свободи 4, м. Харків, 61022

## РЕЦЕНЗІЯ

офіційного рецензента доктора медичних наук (спеціальність — 14.03.08 Імунологія та алергологія), професора, декана медичного факультету, професора кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна ЛЯДОВОЇ Тетяни Іванівни на дисертаційну роботу Москальова Віталія Борисовича «Одержання та оцінка біологічної активності екзометаболітів мезенхімальних стовбурових клітин», подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 – Біологія за спеціальністю 091 – Біологія

### 1. Обґрунтування вибору теми дослідження

Дослідження, пов'язані з використанням потенціалу стовбурових клітин розпочались ще у ХХ столітті. На сьогодні існує великий досвід використання стовбурових клітин у різних напрямках медицини (кардіологія, неврологія, гематологія, ортопедія, дерматологія, ендокринологія та ін.). Крім того, використання стовбурових клітин оформилось в окремий напрямок клітинної терапії. Особливості функціонування стовбурових клітин і, насамперед, їх регенеративний потенціал є предметом дослідження широкого кола науковців.

Мезенхімальні стовбурові клітини ссавців на сьогодні вважаються найбільш перспективним видом аутогенного й алогенного матеріалу для клітинної терапії. Існує значна кількість протоколів культивування мезенхімальних стовбурових клітин, проте, часто не акцентується увага на прояві біологічних властивостей цих клітин при культивуванні. Відомо, що мезенхімальні стовбурові клітини стабільно самовідновлюються в клонах

без анеуплодії, генетичної нестабільності і малігнізації. При цьому вони здатні проліферувати в культурі тривалий час, формуючи стабільні диплоїдні клітинні лінії. При індукції до диференціювання, клітини здатні диференціюватись в декількох напрямках, утворюючи *in vitro* клітини інших тканин. Важливе значення має їхня здатність до самооновлення, спрямованого мультилінійного диференціювання, гіпоімуногенності, проліферативного потенціалу, а головне – стабільності генетичного матеріалу під час культивування *in vitro*. Інтерес до використання мезенхімальних стовбурових клітин пов'язаний з можливістю їх отримання з тканин дорослого організму, відносно низькою інвазивністю взяття матеріалу, можливістю отримання великої кількості клітин на етапі виділення.

Поряд з активними дослідженнями стовбурових клітин інтерес представляють роботи, пов'язані з використанням екзометаболітів стовбурових клітин, які приймають участь у комунікації з іншими клітинами та зумовлюють основний спосіб впливу стовбурових клітин на їхні потенційні мішені. Результати досліджень свідчать про можливість опосередкованого впливу екзометаболітів стовбурових клітин на активацію імунної відповіді, здійснення координації процесів клітинного старіння, презентації антигенів. Незважаючи на велику кількість робіт присвячених дослідженню властивостей екзометаболітів стовбурових клітин, пошук та вдосконалення методів їх отримання є досить актуальним.

## **2. Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому і оформлення**

Робота складається зі вступу, 3 розділів, висновків, списку використаних джерел та 1 додатку. Обсяг загального тексту дисертації складає 157 сторінок, з них основного тексту – 139 сторінок. Робота ілюстрована 30 рисунками та 15 таблицями. Список використаних літературних джерел містить 170 найменувань.

У **вступі** обґрунтовано вибір теми дисертаційної роботи, визначено мету, об'єкт і предмет дослідження, основні завдання, визначено наукову новизну і практичне значення отриманих результатів, описано методи, які були використані в даній роботі, зазначено особистий внесок здобувача.

У **першому розділі** представлено огляд літературних джерел з обраної наукової тематики. Розглянуто основні властивості мезенхімальних стовбурових клітин, контактні та дистантні механізми їх дії. Приділено увагу регенеративним процесам, які проходять за участі мезенхімальних



стовбурових клітин, а саме співставлення регенерації з фіброзом та запаленням.

**Другий розділ** охоплює опис матеріалів та методів, які використано в дослідженні. Наведено методи отримання та характеристики мезенхімальних стовбурових клітин і одержання їх екзометаболітів. Детально описано характеристики моделей для визначення біологічної дії екзосом мезенхімальних стовбурових клітин. Представлено методи дослідження імунологічних показників. Окремо приділено увагу біоетичним аспектам у дослідгах на тваринах. У кінці другого розділу міститься опис методик, застосованих для проведення статистичного аналізу отриманих даних.

У **третьому розділі** наведені результати досліджень та їх обговорення. Підрозділ 3.1 представлений характеристикою секретому мезенхімальних стовбурових клітин, а саме визначенням пасажу мезенхімальних стовбурових клітин для збору секретому, особливості умов культивування та оцінкою складу екзометаболітів мезенхімальних стовбурових клітин. У підрозділі 3.2 розглядаються ефекти впливу секретому мезенхімальних стовбурових клітин на регенеративний потенціал печінки *in vitro*. В окремий підрозділ 3.3 виділено дослідження, присвячені імуотропним ефектам секретому мезенхімальних стовбурових клітин на перебіг запалення, антитілопродукцію та клітинну ланку імунітету.

**Висновки** дисертаційної роботи підкреслюють наукову новизну проведених досліджень та логічно виходять із викладеного матеріалу, достатньо повно його відображають, дають відповідь на поставлені в роботі мету та завдання дослідження.

**Список використаних джерел** свідчить про ретельний аналіз сучасної наукової літератури за тематикою роботи.

### **3. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.**

Дисертаційна робота виконана на кафедрі молекулярної біології та біотехнології біологічного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна згідно плану науково-дослідної роботи кафедри за напрямом: «Дослідження у сфері клітинних та імунобіотехнологій з метою отримання біологічно активних фармацевтичних субстанцій для використання у біотехнології та медицині».

#### **4. Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.**

Обґрунтованість і достовірність представлених результатів підкріплені експериментальними дослідженнями та забезпечується: застосуванням актуальних експериментальних моделей та статистичних методів до отриманих даних; систематичним порівнянням отриманих результатів із сучасними науковими здобутками інших авторів; публікацією результатів дисертаційного дослідження в наукових виданнях високого рівня; достатньою апробацією отриманих результатів на наукових конференціях.

#### **5. Основні наукові результати, одержані автором, та їх новизна.**

Основні наукові результати та висновки дисертації відображено в публікаціях у фахових та міжнародних наукових виданнях. За результатами дисертаційного дослідження опубліковано 9 наукових праць, серед яких: 1 стаття у вітчизняному фаховому журналі категорії Б; 3 публікації у періодичних виданнях, що входять до міжнародної наукометричної бази Scopus (Q3, Q4); 5 тез доповідей на фахових наукових конференціях. У 2 статтях дисертант є першим автором, 2 статті – одноосібні.

Наукова новизна дисертаційної роботи полягає у наступному.

Запропоновано спосіб одержання компонентів секретому мезенхімальних стовбурових клітин, який заснований на методі ультрафільтрації.

Показано, що низькомолекулярна фракція екзометаболітів мезенхімальних стовбурових клітин (до 10 кДа) має найбільший вплив на регенеративні процеси печінки.

Вперше встановлено, що екзометаболіти мезенхімальних стовбурових клітин активують гуморальну ланку імунітету та забезпечують незначну супресію клітинної ланки імунітету та пригнічення запалення.

#### **6. Практичне значення отриманих результатів.**

В роботі наведено спосіб одержання екзометаболітів мезенхімальних стовбурових клітин та оцінені ефекти їх дії на перебіг патологічного процесу у печінці, запалення та вплив на показники імунної системи експериментальних тварин. Одержані в роботі результати можуть бути впроваджені в освітній процес під час підготовки біологів, біотехнологів, а також фахівців медичного та фармацевтичного спрямування; можуть бути

використанні при моделюванні та розробці фармакологічних препаратів, спрямованих на відновлення функції печінки.

## **7. Дискусійні положення та зауваження до змісту дисертації**

Зауваження:

Загалом дисертація оформлена відповідно наказу №40 МОН України від 12.01.2017 року. Мета наукової роботи досягнута. Завдання виконані у повному обсязі. Принципових і суттєвих зауважень до роботи не виникло, всі розділи були оцінені позитивно. Є окремі зауваження стосовно оформлення результатів та висновків дослідження, були виявлені стилістичні помилки. Однак зазначені зауваження не є принциповими та не знижують загальний високий рівень виконаної роботи.

Крім того, є деякі питання, які хотілось б поставити у межах наукової дискусії:

1. Ви вивчали активність низьмолекулярних фракцій до 10 кДа та до 30 кДа. На Ваш погляд, які компоненти цих фракцій є найбільш ефективними?
2. Що Ви мали на увазі під «відносно стандартними умовами» за якими проводили вдосконалення виділення мезенхімальних стовбурових клітин?
3. На Вашу думку, з чим пов'язано, що найбільшу активність проявляє фракція до 10 кДа, а найнижчу – фракція більше 30 кДа?
4. Чому в якості референтного зразку було обрано Тималін?
5. З чим Ви пов'язуєте те, що отримання цільового продукту для нововиділеної культури визначається 3-5 пасажами, а для деконсервованої культури 2-4 пасажами?

Вказані недоліки не зменшують якість результатів дисертаційної роботи і обґрунтованість неведених здобувачем висновків.

## **8. Загальні висновки щодо дисертаційної роботи.**

Дисертаційна робота Москальова Віталія Борисовича «Одержання та оцінка біологічної активності екзометаболітів мезенхімальних стовбурових клітин» є завершеною науковою працею, яка відповідає вимогам наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження Вимог до оформлення дисертацій» (з наступними змінами) та «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 № 44 від 12.01.2022 р., а її автор Москальов Віталій Борисович заслуговує присудження йому ступеня доктора філософії з галузі знань 09 – «Біологія» за спеціальністю 091 – «Біологія».

**Офіційний рецензент,**

декан медичного факультету,  
професор кафедри інфекційних хвороб  
та клінічної імунології медичного факультету  
Харківського національного університету  
імені В. Н. Каразіна  
д. мед. н., професор

Тетяна ЛЯДОВА

Онлайн сервіс створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

ПРОТОКОЛ

створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

Дата та час: 20:51:36 25.12.2023

Назва файлу з підписом: Рецензія\_Москальов\_Лядова.pdf.p7s

Розмір файлу з підписом: 174.7 КБ

Перевірені файли:

Назва файлу без підпису: Рецензія\_Москальов\_Лядова.pdf

Розмір файлу без підпису: 156.6 КБ

Результат перевірки підпису: Підпис створено та перевірено успішно. Цілісність даних підтверджено

Підписувач: Лядова Тетяна Іванівна

П.І.Б.: Лядова Тетяна Іванівна

Країна: Україна

РНОКПП: 2803217567

Час підпису (підтверджено кваліфікованою позначкою часу для підпису від Надавача): 20:51:32 25.12.2023

Сертифікат виданий: "Дія". Кваліфікований надавач електронних довірчих послуг

Серійний номер: 382367105294AF970400000052D315000AEDC301

Тип носія особистого ключа: ЗНКІ криптомодуль ІІТ Гряда-301

Алгоритм підпису: ДСТУ-4145

Тип підпису: Кваліфікований

Тип контейнера: Підпис та дані в CMS-файлі (CAAdES)

Формат підпису: З повними даними ЦСК для перевірки (CAAdES-X Long)

Сертифікат: Кваліфікований

Голові разової спеціалізованої вченої ради  
Харківського національного  
університету імені В. Н. Каразіна  
професору ЗВО  
кафедри фізіології людини та тварин  
біологічного факультету,  
професору БОНДАРЕНКО Тетяні  
майдан Свободи 4, м. Харків, 61022

## **ВІДГУК**

офіційного опонента доктора біологічних наук (спеціальність — 14.03.04 Патологічна фізіологія), професора, головного наукового співробітника навчально-наукового інституту післядипломної освіти Харківського національного медичного університету ПАВЛОВА Сергія Борисовича на дисертаційну роботу Москальова Віталія Борисовича «Одержання та оцінка біологічної активності екзометаболітів мезенхімальних стовбурових клітин», подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 – Біологія за спеціальністю 091 – Біологія

### **1. Актуальність теми дисертації**

Робота Москальова В. Б. присвячена актуальній проблемі біології – механізмам регуляції репаративних процесів. Метою роботи стало з'ясування ролі екзометаболітів мезенхімальних стовбурових клітин у процесах репарації та регенерації пошкоджених тканин. Репаративні процеси – це складна динамічна послідовність, де суворо скоординовані взаємодії численних клітин і медіаторів. Важливу роль в цих процесах відіграють мезенхімальні стовбурові клітини.

Вивчення ролі стовбурових клітин в репаративних процесах має значну історію. Але, на сьогодні не повністю з'ясовані механізми фізіологічної та репаративної регенерації, які ґрунтуються на функціональній активності стовбурових клітин різних типів. Окремим напрямом їх дослідження є вивчення механізмів міжклітинної сигналізації цих клітин між собою та з клітинами інших популяцій за рахунок медіаторів, що обумовлюють можливість дистантної регуляції функцій організму.

Стовбурові клітини дорослого організму, до яких належать й мезенхімальні, здатні до асиметричного поділу, мультилінійної диференціації, міграції до пошкоджених клітин, та продукції широкого спектру біологічно активних речовин. Вивчення взаємодії мезенхімальних стовбурових клітин з регіональними стовбуровими та імунокомпетентними клітинами, і наслідків

такої взаємодії на рівні тканини, органу та організму є важливою проблемою фізіології людини і тварин.

У своїй роботі Москальов В. Б. досліджує вплив екзометаболітів мезенхімальних стовбурових клітин на репаративні процеси на декількох моделях. Процеси регенерації – на прикладі печінки, органу з високою здатністю до репаративної регенерації. Повне відновлення печінки ссавців можливе за умов резекції двох її третин. Актуальним також є вивчення порушення репаративної регенерації в умовах дії пошкоджуючих факторів та персистуючого запалення, що призводить до втрати можливості відновлення пошкоджень, а відтак й функції органу. Тому вивчення впливу речовин, що дозволяють відновити процеси репарації, в тому числі екзометаболітів мезенхімальних стовбурових клітин є актуальним та потребує подальших досліджень.

З'ясування механізмів зрушення рівноваги у динамічних процесах пошкодження – відновлення печінки з використанням медіаторних молекул, що продукуються мезенхімальними стовбуровими клітинами, з одного боку, допомагає прояснити питання фізіологічної регуляції репарації, як ключового процесу підтримки тканинного гомеостазу, а з іншого боку, дає можливість розробляти нові біотехнологічні засоби лікування патології печінки.

Необхідно зазначити, що докладних наукових досліджень ролі медіаторних молекул, що продукуються мезенхімальними стовбуровими клітинами на сьогодні існує небагато, тому дисертаційну роботу Москальова В. Б можна вважати актуальною і такою, що відповідає сучасним потребам біології.

## **2. Наукова новизна дослідження та одержаних результатів**

Дисертант отримав такі наукові результати.

### Вперше:

1) Використано метод ультрафільтрації для одержання окремих фракцій секретому мезенхімальних стовбурових клітин (МСК).

2) Методику органотипової культури печінки використано для оцінки впливу чинників на організм тварини, з якої було одержано фрагменти органу (модель *ex vivo*).

3) Встановлено, що низькомолекулярна фракція екзометаболітів МСК має чи не найбільшу біологічно активність *in vitro*, ефекти фракції масою менше 10 кДа підтверджені *in vivo* та *ex vivo*.

4) Встановлено значне посилення вироблення антитіл на ксеноантиген, а також компенсацію імунодефіцитного стану системи після введення екзометаболітів неактивованих МСК.

### Здобуло подальший розвиток:

5) Методику органотипової культури використано для оцінки гепатотропної дії біологічно активних речовин (модель *in vitro*).

б) Підтверджені протизапальні властивості екзометаболітів неактивованих МСК.

### **3. Теоретичне та практичне значення результатів дослідження**

Одержані результати можуть бути використані для поглиблення розуміння механізмів дії стовбурових клітин; регуляції фізіологічних функцій, зокрема, регенерації, фіброзу, запалення та продукції антитіл під дією секретованих стовбуровими клітинами речовин, в першу чергу, низької молекулярної маси. На підставі одержаних даних можливо проводити розробку фармацевтичних субстанцій гепатопротективної або гепаторегенеративної дії, що в перспективі може бути основою для розробки нових методів лікування патологій печінки.

Результати досліджень Москальова В. Б. можуть бути впроваджені в освітній процес у викладанні освітніх компонентів «Біологія клітини», «Імунологія», «Загальна біотехнологія», «Фармацевтична біотехнологія».

### **4. Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій**

Достовірність виконаних досліджень забезпечувалася за рахунок чіткої обґрунтованості формування дизайну дослідження, адекватного вибору експериментальних моделей, та оптимального вибору використаних методів: клітинна культура *in vitro*, органотипова культура печінки, спектрофотометричні, моделювання тетрахлорметанового фіброзу *in vivo*, біохімічні, гематологічні, імунологічні (моделі для визначення показників гуморального та клітинного імунітету, інтенсивності запалення), статистичні.

Для кожної експериментальної моделі було проведено достатню кількість досліджень, і використано достатньо експериментальних тварин (загалом 171 щурів та 108 мишей). Кількість тварин у групі була не меншою, ніж потрібно для встановлення значущої відмінності, але не більше за цю величину, відповідно до вимог біоетики (в різних експериментах кількість тварин у групі була від 5 до 10).

Вибрані методи дослідження сучасні, високоінформативні та повністю достатні для адекватного досягнення поставлених завдань. Статистичне опрацювання одержаних даних проводили за допомогою пакету статистичного аналізу Statistica 12.0 (Stat Soft, USA). Для обробки отриманих даних використовували також електронні таблиці Excel. Дані були представлені у вигляді  $M \pm SE$ , де  $M$  – середнє арифметичне,  $SE$  – стандартна похибка середнього арифметичного. Достовірність відмінностей між групами (статистичну значущість) визначали за допомогою непараметричного тесту Краскала-Уолліса для незалежних вибірок, та інших непараметричних тестів. Відмінності вважали статистично значущими при  $p < 0,05$ . Для обробки спектрів поглинання було використано факторний аналіз.



Для обговорення та інтерпретації результатів дослідження використано достатню кількість (понад 50) сучасних літературних джерел. Отже, з методичної точки зору, дисертація виконана правильно, сформульовані автором основні положення та висновки є логічними та послідовними.

## **5. Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому і оформлення**

Обсяг загального тексту дисертації складає 157 сторінок, (4,96 авторських аркушів основного тексту). Робота складається зі вступу, 3 розділів, висновків, списку використаних джерел та обов'язкового додатку. Робота ілюстрована 30 рисунками та 15 таблицями.

Дисертація супроводжується **анотацією** обсягом 0,23 авторських аркуші, виконаною українською та англійською мовами.

У **вступі** обґрунтовано вибір теми дисертаційного дослідження, розкрито мету і завдання дослідження відповідно до предмета та об'єкта дослідження, охарактеризовано наукову новизну і практичне значення одержаних результатів, перераховано методи, що були використані в роботі, окреслено особистий внесок здобувача, апробацію матеріалів дисертації, її структуру та обсяг роботи. Вказано, що дисертація виконана відповідно до плану науково-дослідної роботи кафедри молекулярної біології та біотехнології біологічного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна за напрямом: «Дослідження у сфері клітинних та імунобіотехнологій з метою отримання біологічно активних фармацевтичних субстанцій для використання у біотехнології та медицині».

У **першому розділі** подано огляд літературних джерел, описані біологічні властивості та відомі на сьогодні механізми дії мезенхімальних стовбурових клітин. Розглянуто процеси фіброзу в різних тканинах та органах, включаючи печінку, окреслені органоспецифічні особливості та загальні механізми його розвитку, можливі причини пригнічення репаративної регенерації. Зазначена роль запалення та модуляції функцій клітин імунної системи у цих процесах. Особливу увагу було привернуто потенційній активації регіональних стовбурових та/або прогеніторних клітин та опосередкування цього імунною системою.

**Другий розділ** характеризує загальний дизайн дослідження, використані матеріали та застосовані методи. Обговорені біотичні аспекти дослідів на лабораторних тваринах з позиції положень Європейської директиви щодо захисту тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (86/609/ЕЕС). Викладені та певної мірою обґрунтовані техніки виділення і рутинні маніпуляції з мезенхімальними стовбуровими клітинами, а також спосіб одержання їх екзометаболітів та методики оцінки їх складу. Охарактеризовані моделі органотипової культури печінки, мідь-індукованого та тетрахлорметанового фіброзу. Описані імунологічні моделі на мишах та щурах

(визначення антитілопродукції на фоні введення ксеноантигену, модель вторинного гострого імунодефіциту, оцінка фагоцитарної активності нейтрофілів, моделі «гіперчутливість уповільненого типу» та «карагеніновий набряк»). Зазначено методи статистичного аналізу одержаних даних.

У **третьому розділі** викладені результати досліджень та здійснено їх обговорення. Слід зазначити, що обговорення не винесено в окремий розділ.

У першій частині розділу висвітлені культуральні властивості та секреторна активність клітин різних пасажів з моменту виділення. Встановлено, що кріоконсервування не знижує не лише життєздатність, але й росту та секреторну активність, що не повністю відповідає літературним даним та недостатньо обговорено. Застосований метод оцінки складу фракцій секретому виявив деякі відмінності, як зазначено в роботі, може використовуватися для експрес-тестування зразків, але дає не повне уявлення про відмінності між ними.

У другій частині розділу описані гепатотропні ефекти секретому мезенхімальних стовбурових клітин та окремих його фракцій на моделях *in vitro*, *in vivo* та *ex vivo*. Виявлені позитивні ефекти низькомолекулярної фракції секретому на біохімічні показники, показники червоної крові та співвідношення лейкоцитів.

Завершує розділ частина, присвячена імунотропним ефектам секретому мезенхімальних стовбурових клітин. Використані моделі не є новими, але непогано зарекомендували себе в експериментальній практиці. Одержані дані певною мірою обговорені, висунуті припущення щодо можливих механізмів спостережуваних ефектів.

**Висновки** дисертаційної роботи цілком обґрунтовані результатами власних досліджень, відповідають поставленим меті та завданням, за своїм змістом є цілком виваженими і значущими.

**Список використаних джерел** містить 170 найменувань, 165 (97 %) – англійською мовою. Аналіз бібліографічного списку свідчить про детальний аналіз сучасної наукової літератури за проблемою дослідження та врахування даних зарубіжних англомовних дослідників, що відповідає вимогам.

В цілому дисертація, що розглядається, відповідає за структурою, змістом та оформленням вимогам Наказу Міністерства освіти та науки від 12.01.2017 № 40 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» (зі змінами та доповненнями) та може вважатися завершеною науковою працею.

## **6. Повнота викладення матеріалів дисертації у наукових публікаціях**

Основні наукові результати та висновки дисертації відображено в публікаціях у фахових та міжнародних наукових виданнях. За результатами дисертаційного дослідження опубліковано 9 наукових праць, включаючи 4 статті та 5 тез доповідей (публікації апробаційного характеру).

Одна стаття належить до Q3 відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank, дві статті до Q4 (одна з них одноосібна), та одна одноосібна стаття надрукована у фаховому виданні рекомендованому МОН України що належить до категорії «Б». Опубліковано не більше ніж однієї статті в одному випуску (номері) наукового видання.

У кінці кожного підрозділу розділу 3 «Результати досліджень та їх обговорення» дисертації наведено посилання на статті, в яких опубліковані розглянуті результати.

Результати і основні положення роботи повною мірою висвітлені у зазначених наукових працях.

### **7. Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності**

У рецензованій дисертаційній роботі не встановлено ознак академічного плагіату, фальсифікації чи інших порушень, що могли б поставити під сумнів самостійний характер виконання дисертантом представленого наукового дослідження. Текст є оригінальним, посилання на першоджерела встановлено коректно. Основний зміст дисертаційної роботи викладений у достатній кількості оригінальних робіт, що відповідають необхідним вимогам.

### **8. Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації**

#### Зауваження:

1. Бажано додати дані щодо валідації органотипової культури печінки, та обговорити її обмеження.
2. Недостатньо обговорено, чому саме фракція масою менше 10 кДа виявилась найбільш активною.
3. Бажано додати данні гістологічного дослідження печінки після дії компонентів сектерому в моделі тетрахлорметанового фіброзу.
4. Недостатньо докладно описана методика моделювання карагенінового набряку.
5. Поняття «регенерації», «репарації» та «ремоделювання» у роботі не завжди розрізняються, хоча в огляді літератури використані вірно.
6. Недостатньо чітко описано використання методів статистичного аналізу, а саме розмежування використання критеріїв Манна-Вітні та Уїлкоксона з поправкою Бонферроні та критерію Т'юкі.

#### Дискусійні питання:

1. Тетрахлорметанова модель викликає вогнищевий фіброз. Яким чином досягалась співставність результатів під час культивування експлантатів?
2. У роботі вказано, що HGF регулює співвідношення IL-6 та IL-10 in vivo. Уточніть що саме ви мали на увазі.

3. Поясніть як саме вимірювали об'єм лапи щура та яку саме частину кінцівки у моделі карагенінового набряку?

### **9. Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам**

Дисертаційне дослідження Москальова Віталія Борисовича «Одержання та оцінка біологічної активності екзометаболітів мезенхімальних стовбурових клітин», є завершеною самостійно виконаною науково-дослідною роботою, в якій містяться нові науково обґрунтовані результати, проведених особисто здобувачем досліджень, що розв'язують конкретне наукове завдання і мають істотне значення для біологічної науки.

Проаналізувавши дисертаційну роботу, можна зробити висновок, що здобувач набув теоретичних знань, практичних умінь, навичок та інших компетентностей, достатніх для розв'язання комплексних завдань у галузі дослідницької діяльності, оволодів методологією наукової діяльності.

Дисертаційна робота «Одержання та оцінка біологічної активності екзометаболітів мезенхімальних стовбурових клітин», повністю відповідає вимогам Наказу Міністерства освіти і науки України «Про затвердження вимог до оформлення дисертацій» № 40 від 12.01. 2017 р. (з наступними змінами) і «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 12.01.2022 р. № 44, а її автор Москальов Віталій Борисович заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії, галузь знань 09 Біологія, спеціальність 091 Біологія.

### **Офіційний опонент**

головний науковий співробітник

Навчально-наукового інституту післядипломної освіти

Харківського національного медичного університету

д.б.н., професор

Сергій ПАВЛОВ

Онлайн сервіс створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

ПРОТОКОЛ  
створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

Дата та час: 14:08:42 29.12.2023

Назва файлу з підписом: Відгук\_Москальов\_Павлов.pdf.asice  
Розмір файлу з підписом: 175.2 КБ

Перевірені файли:  
Назва файлу без підпису: Відгук\_Москальов\_Павлов.pdf  
Розмір файлу без підпису: 180.9 КБ

Результат перевірки підпису: Підпис створено та перевірено успішно. Цілісність даних підтверджено

Підписувач: ПАВЛОВ СЕРГІЙ БОРИСОВИЧ  
П.І.Б.: ПАВЛОВ СЕРГІЙ БОРИСОВИЧ  
Країна: Україна  
РНОКПП: 2025901852  
Організація (установа): ФІЗИЧНА ОСОБА  
Час підпису (підтверджено кваліфікованою позначкою часу для підпису від Надавача): 14:08:40  
29.12.2023  
Сертифікат виданий: КНЕДП АЦСК АТ КБ "ПРИВАТБАНК"  
Серійний номер: 5E984D526F82F38F04000000FD5D3B01EC7FAE04  
Алгоритм підпису: ДСТУ-4145  
Тип підпису: Удосконалений  
Тип контейнера: Підпис та дані в архіві (розширений) (ASiC-E)  
Формат підпису: З повними даними для перевірки (XAdES-B-LT)  
Сертифікат: Кваліфікований