

ВИСНОВОК

наукового керівника Артема ТИХОМИРОВА,
д.б.н, завідувача відділу хімії та біохімії ферментів
Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України
на дисертаційну роботу Василя БІЛОУСА

«Молекулярні механізми розвитку патологічних станів рогівки та розробка
підходів до їх корекції»,

що подається на здобуття ступеня доктора філософії
в галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія

1. **Особливості прикріплення до виконання освітньо-наукової програми підготовки доктора філософії.**

Василь БІЛОУС прикріплений до виконання освітньо-наукової програми (ОНП) підготовки докторів філософії в аспірантурі Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України за спеціальністю 091 «Біологія» за навчальним планом освітньої складової (36 кредитів ЄТКС) для здобуття вищої освіти ступеня доктора філософії з 01 листопада 2020 р (Наказ №8-а від 21.10.2020 р.).

Тема дисертаційної роботи «Молекулярні механізми розвитку патологічних станів рогівки та розробка підходів до їх корекції».

Індивідуальний план виконання ОНП підготовки докторів філософії складено вчасно згідно строку, встановленого Наказом №8-а по зарахуванню в аспірантуру, та затверджено на засіданні Вченої ради Інституту 04.02.2021 р. (протокол № 2).

Всі блоки ОНП, обов'язкові дисципліни, дисципліни за вибором здобувача та вибором Інституту, Василем БІЛОУСОМ освоєні успішно та в повному обсязі. Протягом 2020-2024 рр. ним повністю завершено експериментальну роботу, рукопис дисертації та опубліковано необхідну кількість статей у фахових наукових журналах з висвітленням матеріалів дисертації. Всю документацію для звітування та таку, що вимагається процедурою підготовки дисертації, здобувач оформлював та надавав вчасно.

2. **Особливості формування індивідуальної освітньої траєкторії та виконання індивідуального плану здобувача.**

За час роботи в Інституті та проходження ОНП Василь БІЛОУС набув рівня компетентності, що відповідає вимогам підготовки докторів філософії та складається з трьох основних блоків. Загально-науковий блок охоплює наступні дисципліни: філософію культури та науки, іноземну мову, організацію написання дисертаційної роботи, педагогіку вищої школи, асистентську педагогічну практику. В межах навчання за цим блоком

здобувач Василь БІЛОУС прослухав повний курс лекцій, успішно виконав передбачені програмою завдання, та здав заліки та іспити з високими оцінками. За період навчання, здобувач продемонстрував високий рівень володіння професійною англійською мовою, а також ефективно підвищив свій методологічний рівень під час відвідування занять із філософії науки. Основні вимоги до написання дисертаційної роботи здобувач вивчив за відповідними державними нормативними документами, що забезпечило високу професійність, продуктивність та ефективність в реалізації підготовки рукопису дисертації. Педагогічна діяльність є невід'ємною складовою наукової роботи. Василь БІЛОУС працює за сумісництвом на кафедрі НМУ ім. О. О. Богомольця з жовтня 2022 р. на посаді асистента кафедри медичної біохімії та молекулярної біології. Василь є співавтором методичних рекомендацій для студентів за темою «Молекулярні механізми онкогенезу», а також брав участь у розробці лекції за темою «Апоптоз. Некроз. Автофагія». Здобувач проходив асистентську педагогічну практику на кафедрі, а його педагогічні здібності відзначені зав. кафедри Л. В. Яніцькою. В межах асистентської педагогічної практики, яку Василь БІЛОУС проходив у відділі хімії та біохімії ферментів Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна, Василь провів 1 лекційне, 4 семінарських та 4 практичних занять, працюючи з студенткою ННЦ «Інституту біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Його робота була оцінена на «відмінно». Серед важливих універсальних навичок дослідника також важливе місце займає презентація отриманих у ході експериментальної роботи результатів. Василь БІЛОУС систематично залучений до написання статей, листування з видавцями та рецензентами, участі у вітчизняних та міжнародних конференціях, що передбачає викладення результатів експериментальної роботи у вигляді тез, постерів, презентацій та доповідей. Найголовнішою компетенцією здобувача є фундаментальна підготовка за спеціальністю («Біологія», спеціалізація – біохімія). Свій професійний рівень за спеціальністю він підтвердив складанням комплексного іспиту з загальної біохімії на «відмінно».

3. Успіхи у набутті компетентностей наукового пошуку.

За період виконання ОНП підготовки докторів філософії в Інституті біохімії ім. О. В. Палладіна Василь БІЛОУС досяг значних як теоретичних, так і практичних успіхів. Здобувач активно приймав участь у плануванні експериментів, моделюванні експериментальних патологічних станів на тваринних моделях, отриманні зразків тваринних тканин для дослідження різноманітних молекулярних механізмів розвитку неоваскуляризації рогівки.

Здобувач має практичний досвід та фундаментальні знання для стійкої власної позиції під час науковій дискусії. Василь БІЛОУС користується повагою співробітників відділу, відповідально виконує поставлені завдання та вміє працювати у колективі з метою досягнення поставленого результату. Постійно працює з сучасною науковою літературою з метою підвищення свого професійного рівня.

4. Актуальність теми дисертаційної роботи.

Людина отримує понад 80% інформації з навколишнього світу через зоровий аналізатор. Важливою умовою для нормального світлопропускання та забезпечення високої якості зору є аваскулярність рогівки, яка у здоровому оці підтримується за рахунок балансу між про- та антиангіогенними регуляторами. Порушення цієї рівноваги за травматизації або патологічних станів рогівки, асоційованих з гіпоксією, запаленням, дисфункцією епітелійних та ендотелійних клітин і дегенеративними змінами тканини, призводить до неоваскуляризації передньої камери ока. Неконтрольоване проростання судин у тканині рогівки є частою причиною вад зору та його можливої втрати, а отже, погіршення якості життя та інвалідизації. З факторами, які можуть спричинити ураження рогівки, людина стикається щодня, як у повсякденному житті й побуті, так і на виробництві (механічне травмування ока, у тому числі, потрапляння сторонніх предметів, пилу та абразивів, хімічні та термічні опіки, ультрафіолетове світло, бактерійні та вірусні інфекційні хвороби, гіпертонічна хвороба, носіння контактних лінз, хірургічні втручання, синдром сухого ока та деякі метаболічні розлади й інтоксикації). В Україні через перебіг воєнних дій особливо гостро стоїть проблема лікування поранень ока та їхніх ускладнень, оскільки значний процент від усіх видів бойових травм складають розриви очного яблука та проникні поранення. Оскільки рогівка володіє щільною іннервацією, то її пошкодження або вплив нейродегенеративних чинників порушують функціонування периферичних нервів, які контролюють гомеостаз у цій тканині, забезпечуючи реалізацію кліпального рефлексу, формування слізної рідини та перебіг репаративних процесів. Існуючі лікарські засоби не завжди забезпечують позитивний терапевтичний ефект та часто проявляють побічну дію, що не забезпечує повноцінного лікування. Таким чином, існує нагальна потреба у пошуку та розробці нових, більш ефективних, фармакотерапевтичних засобів для лікування цієї групи офтальмологічних захворювань, для чого вкрай необхідним є знання молекулярних механізмів їхнього патогенезу. У цьому контексті перспективними кандидатами для застосування в якості антиангіогенних та протизапальних агентів є

ангіостатини – протеолітичні фрагменти плазмін(оген)у, які є одними з найбільш потужних ендogenous інгібіторів росту судин, будучи при цьому нетоксичними, неімуногенними та біосумісними молекулами. Окрім дизайну нових лікарських препаратів, ще однією важливою проблемою сучасної офтальмології є розробка неінвазивних діагностичних підходів (без забору тканини ока), заснованих на визначенні молекулярних маркерів, рівень яких відображає ступінь пошкодження рогівки та дозволяє проводити оцінювання ефективності лікування неоваскулярних захворювань. Отже, заплановані в дисертації експериментальні дослідження, є важливими для розвитку сучасної біохімії, допомагають формувати уявлення про молекулярні механізми розвитку патологічних станів рогівки, а також становлять значний інтерес для прикладної офтальмології.

5. Зв'язок роботи з науковими програмами, темами, планами.

Дисертаційну роботу виконано протягом 2020–2024 рр. у відділі хімії та біохімії ферментів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України у рамках проведення планових досліджень за держбюджетними темами: «Біохімічні механізми контролю системних міжклітинних взаємодій, регулювання сигнальних мереж та клітинних функцій за умов норми та патологічних станів» (№ державної реєстрації 0117U004344, 2017–2021 рр.); «Молекулярні та клітинні механізми реалізації дії плазміноген/плазмінової системи за норми та патології» (№ державної реєстрації 0118U000377, 2018–2022 рр.); «Дослідження функціональної ролі протеїнів плазміноген/плазмінової системи в регулюванні молекулярно-клітинних взаємодій у фібринолізі та за репаративних процесів» (№ державної реєстрації 0123U100516, 2023–2027 рр.).

6. Наукова новизна отриманих результатів.

У представлений роботі вперше показано:

- ангіостатини (фрагменти плазміногену K1-3 та K5) у режимі місцевого застосування у вигляді очних крапель, крім загальновідомої здатності блокувати ріст новоутворених судин, проявляють широкий спектр захисних ефектів у експериментальних моделях лужного опіку рогівки щурів та кроликів;
- ангіостатини дозозалежним чином сприяють зменшенню рівнів протеїнів-маркерів, асоційованих з гіпоксією (HIF-1 α), ангіогенезом (VEGF), ремоделюванням і фіброзом тканин (MMP-9), автофагією (Beclin-1), а також стресом ендоплазматичного ретикулуму (GRP-78), як основних ланок патологічного процесу;

- протекторні ефекти ангіостатинів щодо клітин сателітної глії в травмованій рогівці;
- ангіостатини регулюють рівень протеїну ACE2, який слугує рецептором вірусу SARS-CoV-2, та знижують рівень рецептора за ушкодження рогівки;
- відсутність цитотоксичних ефектів ангіостатинів на клітини пігментного епітелію сітківки за терапевтичного діапазону концентрацій (2–100 нМ), що показано у дослідях на культурі клітин RPE;
- введення тіаміну (вітаміну B₁) у дозі 25 мг/кг маси тіла щурам у моделі хронічного споживання етилового спирту чинить коригувальну дію, зменшуючи прояв токсичних ефектів інтоксикації етанолом у рогівці;
- вітамін B₁ сприяє збільшенню співвідношення Bcl_{XL}/Bax – показника, який свідчить про інгібування апоптозу та підсилення життєздатності клітин у тканині рогівки за умов токсичного впливу етанолу;
- нейропротекторні властивості тіаміну в рогівці щурів за умов тривалого споживання етилового спирту, що проявляється в нормалізації вмісту нейрональних маркерів (NF- κ B, τ -протеїну та NeuN), а також зменшенні рівня активації сателітної глії та експресії відповідного маркера GFAP.

7. Наукове та практичне значення дослідження.

Отримані результати стосовно антиангіогенної дії ангіостатинів та їхніх плейотропних ефектів у рогівці за її пошкодження можуть слугувати основою для створення основи нових лікарських препаратів для терапії захворювань поверхні ока, асоційованих із запаленням та надмірною неоваскуляризацією. Застосування ангіостатинів може бути перспективним засобом для нормалізації стану тканини рогівки під час операцій з кератопластики для створення умов для більш ефективного приживлення трансплантату. Зокрема, ангіостатини можуть бути рекомендовані до застосування у складі композиту, що використовується для створення бандажних (терапевтичних) контактних лінз. Очні краплі, що містять ангіостатини, можуть бути застосовані для профілактики хвороб, пов'язаних з вірусним інфікуванням, зокрема, SARS-CoV-2.

Застосування отриманих в роботі поліклональних антитіл до лактоферину може скласти платформу для розробки нових неінвазивних діагностичних підходів, заснованих на імунохімічній детекції рівня лактоферину в слізній рідині, що зробить лікування пацієнтів з травмами ока більш персоналізованим.

Результати, що доводять антиапоптотичні та нейропротекторні властивості тіаміну (вітаміну B₁) у рогівці, можуть бути корисними для розробки нових вітамінних препаратів як ефективних засобів корекції офтальмологічних проявів хронічної алкогольної інтоксикації.

8. Повнота викладення матеріалу дисертації в наукових публікаціях.

Результати, представлені в дисертації, в повному обсязі висвітлені в 6 наукових публікаціях в фахових виданнях (з них 4 проіндексовано в наукометричній базі SCOPUS), а також в матеріалах 7 вітчизняних та міжнародних наукових конференцій.

9. Структура та зміст дисертації, її завершеність та відповідність установленим вимогам щодо оформлення.

Структура та зміст дисертації відповідають вимогам щодо оформлення рукописів згідно Наказу МОН №40 від 12.01.2017р. Дисертація складається з анотації, вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів, результатів досліджень, їх обговорення, узагальнення, висновків та списку використаних джерел літератури, переліку наукових праць, опублікованих за темою дисертації. Рукопис викладений на 168 сторінках комп'ютерного набору, містить 2 таблиці та 32 рисунки.

10. Дотримання принципів академічної доброчесності.

Дисертаційна робота здобувача Василя БІЛОУСА повністю відповідає п.12 Постанови Кабінету Міністрів України «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» від 12 січня 2022 р., № 44 щодо вимог академічної доброчесності, оскільки не містить плагіату, самоплагіату, фальсифікацій та фабрикації, містить результати, отримані особисто, у всіх інших випадках наводяться посилання на співавторів наукових публікацій та відповідні джерела.

11. Дискусійні положення та зауваження до дисертації.


Дискусійним є положення щодо механізмів дії різних ізоформ ангіостатинів на досліджувані ланки патологічного процесу, що потребує подальшого вивчення. Практичне застосування отриманих результатів потребує додаткових досліджень, що стосуються способу введення та

дозування, а також залежність від генезу захворювання рогівки. Висловлені зауваження носять технічний характер та не впливають на науковий рівень представленого рукопису дисертаційної роботи.

12. Загальний висновок

Дисертаційна робота Василя БІЛОУСА «Молекулярні механізми розвитку патологічних станів рогівки та розробка підходів до їх корекції» за актуальністю, науково-теоретичним рівнем, новизною, практичним значенням відповідає вимогам Постанови Кабінету Міністрів України «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» від 12 січня 2022 р., № 44, а здобувач заслуговує на присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 09 – «Біологія» за спеціальністю 091 – «Біологія».

Науковий керівник:
завідувач відділу хімії та біохімії
ферментів Інституту біохімії
ім. О. В. Палладіна НАН
України, старший науковий
співробітник


д.б.н. Артем ТИХОМИРОВ

