

**Рішення**  
**разової спеціалізованої вченої ради**  
**про присудження ступеня доктора філософії**

Здобувач ступеня доктора філософії Василь БІЛОУС, 1992 року народження, громадянин України, освіта вища: закінчив у 2015 році Київський національний університет імені Тараса Шевченка за спеціальністю «Біохімія», працює провідним інженером відділу хімії та біохімії ферментів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, м. Київ, виконав акредитовану освітньо-наукову програму «Біологія».

Разова спеціалізована вчена рада, утворена наказом Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, м. Київ, від «24» липня 2024 року № 22-а, у складі:

Голови разової  
спеціалізованої  
вченої ради

**Людмили ДРОБОТ**, доктор біологічних наук, професор, завідувач відділу сигнальних механізмів клітини Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

Рецензентів

**Дениса КОЛИБО**, доктор біологічних наук, професор, головний науковий співробітник відділу молекулярної імунології Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України;

**Галини КОСЯКОВОЇ**, кандидат біологічних наук, старший дослідник, завідувач відділу біохімії ліпідів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України;

Офіційних опонентів

**Галини УШАКОВОЇ**, доктор біологічних наук, професор, завідувач відділу біохімії та фізіології Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара;

**Ольги ЯРЕМЧУК**, доктор біологічних наук, професор кафедри медичної біохімії Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

на засіданні 16 вересня 2024 року прийняла рішення про присудження ступеня доктора філософії у галузі знань 09 Біологія Василю БІЛОУСУ на підставі публічного захисту дисертації «Молекулярні механізми розвитку патологічних станів рогівки та розробка підходів до їх корекції» за спеціальністю 091 Біологія.

Дисертацію виконано в Інституті Біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, м. Київ.

Науковий керівник Артем ТИХОМИРОВ, д.б.н., с.н.с., Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, зав. відділу хімії та біохімії ферментів.

Дисертацію подано у вигляді спеціально підготовленого рукопису українською мовою, що відповідає вимогам пункту 6 Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 року № 44 (зі змінами).

Дисертація Василя БІЛОУСА є самостійною та ґрунтовною науковою працею, що виконана з дотриманням вимог академічної доброчесності, отримані результати якої мають важливе теоретичне та практичне значення для галузі знань Біологія. Дисертаційна робота Василя БІЛОУСА присвячена дослідженню молекулярних механізмів розвитку патологічних станів рогівки, спричинений лужним опіком та метаболічними розладами, а також отримання, характеристику та використання антитіл до лактоферину людини у діагностичних цілях.

Наукова новизна полягає у тому, що у представленій роботі вперше встановлено на експериментальних моделях лужного опіку рогівки щурів та кролів, що ангіостатини (фрагменти плазміногену K1-3 та K5) проявляють широкий спектр захисних ефектів. Новизну роботи складають також результати, які демонструють протекторні ефекти ангіостатинів щодо клітин сателітної глії в травмованій рогівці. Вперше показано, що введення тіаміну щурам з хронічною алкогольною інтоксикацією чинить коригувальну дію, зменшуючи наслідки токсичних ефектів етанолу в рогівці. Новими є результати, які доводять нейропротекторні властивості тіаміну в рогівці щурів за умов тривалого споживання етилового спирту.

Здобувач має 7 наукових публікацій за темою дисертації у наукових виданнях, включених на дату опублікування до переліку наукових фахових видань, 4 з яких у періодичному науковому виданні проіндексованому у базі Scopus та 7 доповідей та тез на наукових конференціях:

1. V. L. Bilous, L. G. Kapustianenko, A. A. Tykhomyrov. Production and application of angiostatins for the treatment of ocular neovascular diseases. *Biotechnologia Acta*, 2021 V. 14, N 1. P. 5-24.

<https://doi.org/10.15407/biotech14.01.005>

2. I. V. Gavrylyak, N. K. Greben, V. L. Bilous, V. V. Korska, D. G. Zhaboiedov, C. A. Aǧca, A. O. Tykhomyrov The levels of hypoxia- and angiogenesis-related regulators and matrix metalloproteinase 9 activity in tear fluid of patients with non-penetrating ocular traumas. *Medicni perspektivi*, 2022 V. 27, N 4, P. 168-176.

<https://doi.org/10.26641/2307-0404.2022.4.271217>

3. A. Tykhomyrov, O. Yusova, L. Kapustianenko, V. Bilous, T. Drobotko, I. Gavryliak, N. Greben, C. A. Aǧca. Production of anti-lactoferrin antibodies and their application in analysis of the tear fluid in health and corneal injuries. *Biotechnologia Acta*, 2022, V. 15, N. 5, P. 31-40.

<https://doi.org/10.15407/biotech15.05.031>

4. O. S. Pavlova, V. L. Bilous, V. V. Korska, S. P. Stepanenko, Yu. M. Parkhomenko, A. O. Tykhomyrov. Changes in the levels of neurospecific proteins and indices of apoptosis in the rat cornea at chronic ethanol consumption: protective effects of thiamine administration. *Neurophysiology*, 2022, V. 54, N. 1–2, P. 25-36.

<https://doi.org/10.1007/s11062-023-09932-4>

5. **V. L. Bilous**, L. G. Kapustianenko, O. I. Yusova, V. V. Korsa, V. S. Nedzvetsky, C. A. Ağca, S. V. Ziablitsev, A. O. Tykhomyrov. Angiostatins modulate ACE2 and GFAP levels in injured rat cornea and do not affect viability of retinal pigment epithelial cells. *Biopolymers and Cell*, 2023, V. 39, N. 4, P. 299-310.

<https://doi.org/10.7124/bc.000AA1>

6. **V. Bilous**, A. Tykhomyrov. Multiple effects of angiostatins in injured cornea. *Ukr. Biochem. J.* 2024, V. 96, N. 1, P. 37-48.

<https://doi.org/10.15407/ubj96.01.037>

7. **V. Bilous**, N. Greben, I. Gavryliak, C. A. Ağca. Beneficial effects of angiostatin K1-3 and lactoferrin in alkali-burned rabbit cornea: a comparative study. *Biotechnologia Acta*, 2024, V. 17, N. 3, P. 47-58.

<https://doi.org/10.15407/biotech17.03.047>

У дискусії взяли участь голова, рецензенти, офіційні опоненти та висловили зауваження:

1. **Людмила ДРОБОТ**, д.б.н., проф., зав.відділу сигнальних механізмів клітини Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна, без зауважень.

2. **Денис КОЛИБО**, д.б.н., проф., гол. н. с. відділу молекулярної імунології Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України надав позитивну рецензію із зауваженнями та запитаннями:

1. Який із зазначених Вами чинників патологічного процесу у рогівці після хімічного опіку, а саме некроз, апоптоз, аутофагія, стрес ендоплазматичного ретикулуму, гіпоксія, запалення, ЕМТ, ремоделювання екстрацелюлярного матриксу, міжклітинні контакти чи активація металопротеїназ тощо, є, на вашу думку, пусковим механізмом в індукції неоваскуляризації? На яку з цих ланок найбільш спрямовано діють ангіостатини?

2. Стосовно неоваскуляризації рогівки після лужного опіку Ви справедливо зазначаєте, що «Таку фізіологічну відповідь організму можна розглядати як адаптаційний механізм, спрямований на захист тканин рогівки від впливу гіпоксичного стану». І також зазначаєте, що «Існуючі на сьогодні консервативні методи лікування неоваскулярних захворювань, які зосереджені на застосуванні анти-VEGF агентів, не завжди забезпечують позитивний терапевтичний ефект, що часто пов'язано з порушеннями репаративно-регенеративних процесів в оці». Проте у Ваших експериментах за умов інгібування неоваскуляризації ангіостатинами «K1-3 протягом 14 днів, у ділянці тканинного дефекту спостерігається виражена регенерація сполучної тканини (рисунок 3.8.В)». Чим Ви це пояснюєте?

3. Чим Ви можете пояснити такий експериментальний факт, що фрагмент плазміногену K5 мав «найбільш виражений нейропротекторний ефект по відношенню до гліальної реактивності» в порівнянні з іншими досліджуваними чинниками?

4. Який ще вплив, крім пригнічення активності НАДФ-Н-оксидоредуктазної системи та міграційної активності, можуть, на Вашу думку, справляти ангіостатини на макрофаги?
5. Чим Ви пояснюєте достовірне збільшення експресії VEGF за сумісної дії етанолу та тіаміну? Чи не може це пояснювати антиапоптичну дію тіаміну?
6. На мою думку, треба додати «мету» в анотацію роботи.
7. В списку власних праць можна зазначити особистий внесок автора після кожного посилання.

**3. Галина Косякова**, к.б.н., с.н.с. завідувач відділу біохімії ліпідів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України надала позитивну рецензію із зауваженнями та запитаннями:

1. В назві роботи задекларовані молекулярні механізми розвитку патологічних станів рогівки, отже, ці механізми мають бути зазначені у висновках та науковій новизні дисертаційного дослідження.
2. В методичній частині роботи слід навести критерії за якими оцінювали розвиток алкогольної залежності.
3. В огляді літератури, автор наводить дані що ангіостатини спричиняють зростання рівнів інтерлейкіну 12. Як це узгоджується із відомою антизапальною дією цих сполук?
4. Чи можна, на думку автора, назвати протеїн NeuN – маркером нейрональної активності, як зазначено в тексті роботи?
5. Як автор може оцінити можливі побічні ефекти від застосування препаратів на основі ангіостатинів, зокрема чи можливе інгібування активації плазміногену?
6. Текст дисертації потребує доопрацювання (зустрічаються слова-кальки з інших мов, стилістично невдалі вирази. тощо ). Слід також звернути увагу на підписи до рисунків, які ілюструють результати досліджень, вони мають починатися із назви об'єктів, що на них зображені.

**4. Галина УШАКОВА**, д.б.н., проф., зав. відділу біохімії та фізіології Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара надала позитивний відгук із запитаннями та зауваженнями:

1. Бажано у дисертації презентувати схеми українською (Рис. 2.1. Схема отримання крингл-вмісних фрагментів плазміногену (ангіостатинів) та ін.).
2. Який зв'язок між розвитком запального процесу та неоваскуляризацією за розвитку патологічних станів, зумовлених різними факторами?
3. Продемонстровані результати вказують на те, що ангіостатини впливають на експресію ACE2. Чи мають протеолітичні фрагменти плазміногену інші ефекти щодо захисту організму від вірусів, окрім безпосереднього впливу на рецептор SARS-CoV-2?

4. Чим обумовлене зростання рівня GFAP у рогівці за умов травматизації? Які клітини відповідають за продукцію цього маркеру безпосередньо у рогівці?
5. Як відомо, тіамін є стимулятором ангиогенезу через індукцію проліферації ендотелійних клітин та пригнічення апоптозу. Чим Ви можете пояснити нормалізацію процесів у рогівці, зниження ступеня неоваскуляризації, зважаючи на те, що рівень проангіогенного маркеру VEGF зростає за використання тіаміну?
6. Чим можна пояснити наявність у слізній рідині наявність більше ніж 3500 протеїнів? Яке їх походження і діагностичне значення?
7. Чи визначали Ви рівень ангиостатинів у рогівці тварин до та після лікування лужного опіку?
8. Чи запатентовані отримані оригінальні нові результати ваших досліджень?

5. **Ольги ЯРЕМЧУК**, д.б.н., проф. кафедри медичної біохімії Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України надала позитивний відгук із запитаннями та зауваженнями:

В цілому, робота написана й оформлена досить кваліфіковано. Разом з тим, трапляються незначні орфографічні, стилістичні помилки, невдалі вирази (наприклад, «дизайн нових лікарських препаратів» (с.30)).

В анотації вказано: «За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я у всьому світі кількість пацієнтів з очними хворобами, пов'язаними з розвитком неоваскуляризації рогівки, щорічно збільшується на 1,4 млн. з тенденцією до зростання», проте у вступі: «За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я у світі, у середньому, 1,4 млн. людей страждають на захворювання рогівки різної етіології...» з посиланням на джерело (Tidke et al., 2022) у якому вказано, що 1,4 млн. дітей є сліпими.

Незначні похибки в оформленні не зменшують важливість виконаного наукового дослідження. Однак, незважаючи на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи в контексті дискусії до роботи Василя БІЛОУСА є запитання:

1. Як Ви оцінюєте перспективи дослідження рівнів нейроспецифічних протеїнів у рогівці у діагностиці нейродегенеративних захворювань?
2. Чи розглядали Ви ефекти тіаміну на утворення ендогенних ангиостатинів як супресорів судиноутворення за умов хронічної алкогольної інтоксикації етиловим спиртом?
3. Що може бути причиною більш виражених позитивних ефектів ангиостатинів у порівнянні з референтним препаратом – лактоферином?

Результати відкритого голосування:

«За» 5 членів ради,

«Проти» немає членів ради.

На підставі відкритого голосування разова спеціалізована вчена рада присуджує Василю БІЛОУСУ ступінь доктора філософії у галузі знань 09 - Біологія за спеціальністю 091 – Біологія.

Відеозапис трансляції захисту дисертації додається.

Голова разової  
спеціалізованої  
вченої ради

(підпис)

Людмила ДРОБОТ

Підпис *Людмила Дробот*  
ЗАСВІДЧУЮ  
Зав. канцелярією  
Інституту біохімії ім. О.В.Палладіна  
національної академії наук України  
"18" 09 2024 р.

