

Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0823U101652

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 07-12-2023

Статус: Наказ про видачу диплома

Реквізити наказу МОН / наказу закладу: Наказ ХНУ імені В. Н. Каразіна № 0302-Зк/124 від 01.02.2024 р.



II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Москальов Віталій Борисович
2. Vitalii Moskalov

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-9831-3173

Вид дисертації: доктор філософії

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 091

Назва наукової спеціальності: Біологія та біохімія

Галузь / галузі знань: біологія

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Біологія

Дата захисту: 16-01-2024

Спеціальність за освітою: Генетика

Місце роботи здобувача: Комунальний заклад "Харківська гуманітарно-педагогічна академія" Харківської обласної ради

Код за ЄДРПОУ: 02125591

Місцезнаходження: провулок Руставелі, буд. 7, Харків, Харківський р-н., 61001, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Департамент науки і освіти Харківської обласної державної адміністрації

Ідентифікатор ROR:

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): ID 3591

Повне найменування юридичної особи: Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

Код за ЄДРПОУ: 02071205

Місцезнаходження: майдан Свободи, буд. 4, Харків, Харківський р-н., 61022, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

IV. Відомості про підприємство, установу, організацію, в якій було виконано дисертацію

Повне найменування юридичної особи: Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

Код за ЄДРПОУ: 02071205

Місцезнаходження: майдан Свободи, буд. 4, Харків, Харківський р-н., 61022, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації: Українська

Коди тематичних рубрик: 34.19, 34.39, 34.43, 34.57

Тема дисертації:

1. Одержання та оцінка біологічної активності екзометаболітів мезенхімальних стовбурових клітин
2. Obtaining and evaluating the biological activity of exometabolites of mesenchymal stem cells

Реферат:

1. Дисертація присвячена охарактеризуванню біологічних ефектів екзометаболітів неактивованих ксеногенних мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) на прояви фібротичного процесу на експериментальній моделі тетрахлорметанового фіброзу та з'ясуванню внеску окремих імунологічних показників до цих ефектів. МСК є популяцію високопластичних клітин, які приймають участь у регенеративних процесах і регуляції гомеостазу організму. Механізми їх дії можна поділити на контактні (прямий міжклітинний контакт) та дистантні (екскреція широкого спектру екзометаболітів). МСК також можуть у невеликій кількості диференціюватися у клітини пошкодженої тканини. Відомо багато біологічних та навіть клінічних ефектів стовбурових клітин. Регуляторна дія екзометаболітів (секретому) стовбурових клітин вивчена значно менше, ніж контактні взаємодії. З'ясування його ролі є важливим як для розуміння механізму дії стовбурових клітин, так й для їх практичного застосування у біотехнології. Використання секретому не пов'язано с потенційним ризиком терапії живими клітинами та розв'язує більшість біоетичних проблем. Секретовані МСК екзометаболіти містять розчинні компоненти – цитокіни, хемокіни, фактори

росту – та везикули (мікроРНК), а у сукупності йменуються секретомом. Вплив ліпополісахариду, запальних цитокінів активує МСК та змінює профіль їх секретому, який не завжди може бути достовірно прогнозованим. Вивчення біологічної дії секретому неактивованих МСК, одержаних у відносно стандартизованих умовах культури майже не здійснювалось. Для розуміння механізму дії та потенціального використання компонентів секретому доцільно розробляти ефективні та відносно недорогі способи розділення його на фракції, наприклад мембранну фільтрацію. В якості експериментальної моделі для оцінки біологічної дії компонентів секретому було обрано фіброз печінки. Хвороби печінки є поширеною причиною смерті у світі. Основним патологічним процесом, у якому виявляються ці хвороби є саме фіброз з потенційним переходом до цирозу. Хоча печінка володіє високою здатністю до регенерації, в умовах інтенсивного фіброзу, що супроводжується персистуючим запаленням, відновлення пошкодженої тканини відбувається неефективно. Важливим є пошук речовин та композицій, які здатні ефективно зміщувати рівновагу «фіброз–регенерація» у бік останньої та, при цьому, зменшувати запальні прояви. Персистуюче запалення є чинником, що підтримує фібротичний процес, а клітини імунної системи можуть продукувати надлишок прозапальних цитокінів, викликаючи «цитокіновий шторм», який призводить до пошкодження тканин. Вірогідно існують й інші імунологічні механізми підтримки фіброзу печінки. Одним з механізмів дії мезенхімальних стовбурових клітин та, як припускається у роботі, їх екзометаболітів є саме імуномодулювальна та протизапальна дія. Дослідження ефекту секретому МСК на динаміку змін запалення, інтенсивність антитілопродукції, фагоцитарної активності нейтрофілів та клітинних реакцій у моделі гіперчутливості уповільненого типу дозволяє одержати дані для комплексного розуміння впливу секретому МСК, що є важливим для розуміння механізмів їх антифібротичної дії. Тож тема дисертації є актуальною та допоможе розв'язати проблеми практичного застосування МСК. Розроблено спосіб одержання екзометаболітів МСК кістковомозкового походження, що може включати криогенне зберігання клітин. Збір кондиційованого екзометаболітами МСК середовища краще здійснювати від культур 3–5 пасажів, на 48 год. росту за умови наявності 5–6 млн клітин/мл. Екзометаболіти можуть бути розділені за масою ультрафільтрацією. Порівняння спектрів поглинання фракцій секретому показує більшу кількість білків у цільній фракції секретому та їх відмінний від контрольного середовища амінокислотний склад. Встановлено, що секретом МСК стимулює *in vitro* формування зони росту навколо фрагментів печінки, одержаних від інтактних тварин. Найбільшу активність виявляє фракція масою <10 кДа, найнижчу – фракція масою вище за 30 кДа. Вперше досліджено вплив фракції секретому масою менше 10 кДа на фібротичну печінку *in vivo*. Зафіксовано зниження ендогенної інтоксикації продуктами аутолізу печінки, зменшення фібротичних процесів та анемічних проявів. Також спостерігалось компенсаторне посилення регенеративної активності печінки *ex vivo*. Вперше встановлено, що секретом МСК може посилювати антитілопродукцію на фоні імунізації ксеноантигеном. Вплив високих доз більше виражений за в/м введення. Також з'ясовано вперше, що екзометаболіти МСК здатні забезпечувати компенсацію імунодефіцитного стану. Визначено, що вплив секретому МСК на клітинні відповіді навпроти більш активний за п/ш введення секретому. Показано, що секретом ксеногенних неактивованих МСК не чинить ані супресуючої, ані активуючої дії на фагоцитарну активність нейтрофілів. Досліджено динаміку антиексудативної активності під впливом екзометаболітів МСК. Вони мають виражену протизапальну дію, яка починається пізніше, ніж дія інгібіторів циклооксигенази та виявляється більш плавно.

2. This thesis is devoted to the characterization of the biological effects of non-activated mesenchymal stem cells (MSCs) exometabolites on the manifestations of the fibrotic process on the experimental model of tetrachloromethane fibrosis and to elucidate the contribution of individual immunological indicators to these effects. MSCs are a population of highly plastic cells that take part in regenerative processes and regulation of body homeostasis. The mechanisms of their action can be divided into contact (direct intercellular contacts) and distant (excretion of a wide range of exometabolites). MSCs can also differentiate into cells of the damaged tissue in small quantities. Numerous biological and even clinical effects of stem cells have been shown. The regulatory effect of exometabolites (secretome) of stem cells has been studied much less than contact interactions. Elucidating the role of the secretome is important both for understanding the mechanism of stem cells action and

for their practical application in biotechnology. The use of the secretome is not related to the potential risk of living cell therapy and solves most bioethical problems. Exometabolites secreted by MSCs contain soluble components – cytokines, chemokines, growth factors – and vesicles (miRNAs), and are collectively called the secretome. The influence of LPS, inflammatory cytokines, activates MSCs and changes the profile of their secretome, which cannot be reliably predicted. The study of the biological effect of the secretome of non-activated MSCs, obtained under relatively standardized conditions, was almost never carried out. To understand the mechanism of action and potential use of secretome components, it is advisable to develop effective and relatively inexpensive methods of fractionating, e.g., membrane filtration. Liver fibrosis was chosen as an experimental model. A liver disease is a common cause of death in the world. The main pathological process in these diseases is exactly fibrosis with a potential transition to a cirrhosis. Although the liver has a high capacity for regeneration, in conditions of intense fibrosis accompanied by persistent inflammation, the recovery of damaged tissue is ineffective. It is important to search for substances and compositions that can effectively shift the balance of "fibrosis-regeneration" towards the latter process and reduce inflammatory manifestations. Persistent inflammation is a factor that supports the fibrotic process, and cells of the immune system can produce an excess of pro-inflammatory cytokines, causing a "cytokine storm" that leads to tissue damage. There are probably other immunological mechanisms supporting liver fibrosis. One of the mechanisms of MSCs action and their secretome is exactly the immunomodulatory and anti-inflammatory effect. The study of the MSCs secretome effect on the dynamics of inflammation changes, the intensity of antibody production, the phagocytic activity of neutrophils and cellular reactions in the model of delayed type hypersensitivity allows to obtain the data necessary for a comprehensive understanding of their antifibrotic action. So, the topic of the thesis is relevant and will help to solve the problems of practical application of MSCs. A method for obtaining MSCs exometabolites of bone marrow origin has been developed and included cryogenic storage of cells. It is better to collect MSCs conditioned medium with exometabolites from cultures of passages 3–5, for 48h growth provided there are 5–6 million cells/ml. Exometabolites can be separated by mass by ultrafiltration. A comparison of the secretome fractions absorption spectra shows a greater number of proteins in the whole fraction of the secretome and their difference from the control medium in amino acid composition. The xenogeneic MSCs exometabolites stimulate in vitro formation of a growth zone around liver fragments obtained from intact animals. The fraction with a mass <10kDa showed the highest activity, the fraction with a mass >30kDa showed the lowest one. For the first time, the effect of the secretome with a mass <10kD on the fibrotic liver in vivo was studied. A decrease in endogenous intoxication by liver autolysis products, fibrotic processes and anemic manifestations were recorded. Compensatory enhancement of liver regenerative activity ex vivo was also observed. Non-activated xenogeneic MSCs secretome enhances antibody production. The effect of i/m administration is more pronounced. MSCs exometabolites are able to compensate for the immunodeficiency state. The impact of the MSCs secretome on cellular responses, on the contrary, is more pronounced in case of s/c administration. The secretome of xenogeneic non-activated MSCs has neither a suppressive nor an activating effect on the phagocytic activity of neutrophils. MSCs exometabolites have a pronounced anti-inflammatory action, which begins later than the action of cyclooxygenase inhibitors and is more gradual.

Державний реєстраційний номер ДіР:

Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки: Науки про життя, нові технології профілактики та лікування найпоширеніших захворювань

Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності: Впровадження нових технологій та обладнання для якісного медичного обслуговування, лікування, фармацевтики

Підсумки дослідження: Нове вирішення актуального наукового завдання

Публікації:

- Bozhkov A. I., Novikova A. V., Klimova E. M., Ionov I. A., Akzhyhitov R. A., Kurhuzova N. I., Bilovetska S. G., Moskalov V. B. & Haiovy S. S. Vitamin A Reduces the Mortality of Animals with Induced Liver Fibrosis by Providing a Multi-level Body Defense System. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*. 2023. Vol. 13 No 1. P. 48–63.
- Moskalov V., Koshova O., Ali S., Filimonova N., Tishchenko I. Impact of xenogenic mesenchymal stem cells secretome on a humoral component of the immune system. *WikiJournal of Medicine*. 2023. Vol. 10, No 1, Article 9.
- Moskalov V. Effects of various xenogenic mesenchymal stem cell secretome fractions on the regenerative capacity of the liver in vitro. *Revista Bionatura*. 2023. Vol. 8, No 3. Article 90.
- Moskalov, V. B. Obtaining and description of exometabolites of canine mesenchymal stem cells derived from bone marrow. *Biodiversity, Ecology and Experimental biology*. 2023. Vol. 25, No 1. P. 15-24.
- Москальов В. Б., Мельниченко, С. Ю. Модель органотипової (органної) культури печінки. Інноваційні досягнення сучасних наукових досліджень: матеріали наук-практ. конференції, м. Полтава, 27-28 серпня 2021 р. / Полтава: Вид-во «Молодий вчений», 2021. С. 26-28.
- Moskalov V., Melnychenko S. Hepatoprotective activity of mesenchymal stem cells exometabolites fractions. *Problems and Achievements of Modern Biotechnology: materials of the 2nd international scientific and practical internet conference, Kharkiv, Mai 20th, 2022 / Kharkiv: NUPha, 2022. P. 34-36.*
- Moskalov V. B., Melnychenko S. Yu., Bozhkov A. I. Dose dependence of hepatoprotective activity of mesenchymal stem cells exometabolites. *The All-Ukrainian Conference on Molecular and Cell Biology with international participation, Kyiv, June 15th–17th, 2022 / Kyiv: IMBG, NAS of Ukraine, 2022. P. 71.*
- Moskalov V. B., Koshova O. Yu. The potential of using the secretome of xenogenic mesenchymal stem cells as an immunomodulatory agent. Moskalov, V. B., & prof. Skivka L. et al. (Ed.), *Microbiology and Immunology – Development Outlook in the 21st century: materials of the 4th International Scientific Conference, Kyiv, September 22nd–23rd, 2022 / Kyiv: T. Shevchenko NUK, 2022. P. 34.*
- Moskalov V., Koshova O. Use of the secretome of mesenchymal stem cells in pharmaceutical biotechnology. *Microbiological and Immunological Research in Modern Medicine: materials of the 3rd scientific and practical international distance conference, Kharkiv, March, 24th, 2023 / Kharkiv: NUPha, 2023. P. 140-142.*

Наукова (науково-технічна) продукція: технології; методи, теорії, гіпотези

Соціально-економічна спрямованість: створення принципово нової продукції (матеріалів, технологій тощо) для забезпечення експортного потенціалу та заміщенню імпорту; поліпшення якості життя та здоров'я населення, ефективності діагностики та лікування хворих

Охоронні документи на ОПВ:

Впровадження результатів дисертації: Планується до впровадження

Зв'язок з науковими темами:

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Божков Анатолій Іванович

2. Anatoly Bozhkov

Кваліфікація: д. б. н., професор, 03.00.04

Ідентифікатор ORCID ID: 0009-0007-0971-8763

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

Код за ЄДРПОУ: 02071205

Місцезнаходження: майдан Свободи, буд. 4, Харків, Харківський р-н., 61022, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Деримедвідь Людмила Віталіївна

2. Liudmyla Derymedvid

Кваліфікація: д. мед. н., професор, 14.03.05

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-5064-6550

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Національний фармацевтичний університет

Код за ЄДРПОУ: 02010936

Місцезнаходження: вул. Пушкінська, буд. 53, Харків, Харківський р-н., 61002, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство охорони здоров'я України

Ідентифікатор ROR:

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Павлов Сергій Борисович

2. Serhii Pavlov

Кваліфікація: д. б. н., професор, 14.03.04

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-3952-1511

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Харківський національний медичний університет

Код за ЄДРПОУ: 01896866

Місцезнаходження: Проспект Науки, буд. 4, Харків, Харківський р-н., 61022, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство охорони здоров'я України

Ідентифікатор ROR:

Рецензенти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Лядова Тетяна Іванівна
2. Tetiana Liadova

Кваліфікація: д. мед. н., професор, 14.03.08

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-5892-2599

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

Код за ЄДРПОУ: 02071205

Місцезнаходження: майдан Свободи, буд. 4, Харків, Харківський р-н., 61022, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Кот Юрій Григорович
2. Yurii Kot

Кваліфікація: к. б. н., доц., 03.00.04

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0003-2591-4098

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

Код за ЄДРПОУ: 02071205

Місцезнаходження: майдан Свободи, буд. 4, Харків, Харківський р-н., 61022, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

VIII. Заключні відомості

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові
голови ради**

Бондаренко Тетяна Петрівна

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові
головуючого на засіданні**

Бондаренко Тетяна Петрівна

**Відповідальний за підготовку
облікових документів**

Шевченко Андрій Олександрович

Реєстратор

УкрІНТЕІ

**Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є
відповідальним за реєстрацію наукової
діяльності**



Юрченко Тетяна Анатоліївна