Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0825U000210

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 13-01-2025

Статус: Запланована

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Пахаренко Маргарита Вікторівна
2. Marharyta Pakharenko

Кваліфікація: д.філософ, 091

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: доктор філософії

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 091

Назва наукової спеціальності: Біологія

Галузь / галузі знань: біологія

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Біологія

Дата захисту: 16-04-2024

Спеціальність за освітою: 091 Біологія

Місце роботи здобувача:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): PhD 4279

Повне найменування юридичної особи: Національний університет "Києво-Могилянська академія"

Код за ЄДРПОУ: 16459396

Місцезнаходження: вул. Г. Сковороди, буд. 2, Київ, 04070, 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: Національний університет "Києво-Могилянська академія"

Код за ЄДРПОУ: 16459396

Місцезнаходження: вул. Г. Сковороди, буд. 2, Київ, 04070, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації: Українська

Коди тематичних рубрик: 34, 34.03.37, 34.05.17, 34.05.33

Тема дисертації:

1. Гетерогенність гемопоетичних клітин-попередників у культурі клітин in vitro та in vivo у нормі та при мієлодиспластичному синдромі

2. Heterogeneity of hematopoietic progenitor cells in cell culture in vitro and in vivo in norm and in myelodysplastic syndrome

Реферат:

1. Пахаренко М. В. Гетерогенність гемопоетичних клітин-попередників у культурі клітин in vitro та in vivo у нормі та при мієлодиспластичному синдромі. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису. Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія». Національний університет «Києво-Могилянська Академія», Київ, 2023. Експериментальні дані останніх років свідчать про те, що злоякісні стовбурові клітини можуть існувати як самостійні популяції відносно клітин, які знаходяться у стані спокою, і зовсім не реагують на звичайні клітинно-токсичні агенти. Відомо, що більшість стовбурових клітин у дорослому організмі перебувають у стані G0, що дозволяє клітинам довготривало перебувати у гемопоетичних нішах та у разі потреби переходити до проліферації. Завдяки знаходженню поза клітинним циклом стовбурові клітини більш стійкі до ушкоджень ДНК. Ця особливість «сплячих» стовбурових клітин дає змогу зберегти «золотий запас» від всіляких стресових подій і

тим самим сприяти лікуванню. Разом з тим існує популяція гемопоетичних клітин-попередників, на рівні яких відбувається реалізація процесів проліферації і диференціювання, оскільки вони є чутливими до дії цитокінів, які викидаються у випадку нестачі клітин крові на периферії. Роль гемопоетичних клітин-попередників недооцінена, і вона виявилася вагомішою, ніж вважалося раніше. Незважаючи на те, що завдяки використанню мишиних моделей з'являється все більше доказів про існування стовбурових клітин, що ініціюють лейкемію, менш відомо про зміни на рівні компартменту стовбурових клітин у пацієнтів з мієлодиспластичним синдромом (МДС). Хоча припускається, що МДС є «захворюванням стовбурових клітин», вагомі докази цього твердження досі відсутні, крім того, лишається невідомим рівень пошкодження гемопоетичних клітин-попередників у пацієнтів із МДС, що складають цілу групу попередників, які відрізняються за відстанню їх від стовбурової клітини. Крім того, незважаючи на описані хромосомні аномалії, мутації і епігенетичні зміни при МДС, що спостерігаються в попередниках, етапи розвитку, на яких відбуваються патогенні події, ще не визначені. Для вирішення цих питань необхідні нові методичні підходи для виявлення різних типів клітин-попередників завдяки фенотипуванню і/чи культивуванню ранніх гемопоетичних клітин. Доцільність визначення морфологічних і функціональних показників гемопоетичних клітин-попередників з кісткового мозку мишей, щурів і людини обумовлена необхідністю поглиблення знань про особливості їх функціонування, вирішення питання про гетерогенність клітин-попередників у різних ссавців і людини, як загальне виявлення біологічної природи і потенцій у культурі клітин in vitro і in vivo в нормі і порушеннях гемопоезу. Тож метою дисертаційної роботи було визначення гетерогенності гемопоетичних клітин-попередників в культурі in vitro і in vivo для з'ясування іхньої ролі у формуванні патологічного процесу при МДС-ІВ. Щоб відповісти на ці питання, ми провели дослідження популяції прогеніторних клітин у пацієнтів з підтипом МДС-ІВ. Ми вивчали культури гемопоетичних стовбурових клітин в умовах in vitro і in vivo. Вперше було виявлено гетерогенну групу типів колоній (КУО-ГЕММ, КУО-Г, КУО-ГМ і КУО-ММ), ранні представники яких (КУО-ГЕММ і КУО-Г) були притаманні саме МДС-ІВ, а пізні (КУО-ГМ і КУО-ММ) – нормальному гемопоезу. Було встановлено оптимальні терміни культивування гемопоетичних клітин-попередників для людини (12-14 діб), миші (10 діб) та щура (8 діб). Було проаналізовано відповідь прогеніторних клітин на дію підвищених доз цитокінів (G-CSF, GM-CSF, IL-3) а також їх комбінації у культурі, та виявлено, що найкращий ефект викликає саме комбінація вказаних факторів, значно підвищуючи ефективність колонієутворення. Дослідженням культуральних особливостей клітин-попередників при МДС-ІВ було продемонстровано знижену у порівнянні з нормою здатність до колонієутворення останніх, де кількість клітин у клоні не перевищувала 50, а у нормі – 500. Крім того, якісний склад колоній характеризувався наявністю хаотично розміщених примхливих форм клітин. Вперше було продемонстровано, що наявність стромальної підложки зі здорових кістковомозкових клітин не впливає на дефектність гемопоетичних клітин-попередників при МДС-ІВ. Ключові слова: гетерогенність, мієлодиспластичний синдром, метод культивування in vitro та in vivo, кінетика розвитку патологічного процесу у культурі, клітинні механізми, морфологія клітин, фактори росту, міграція клітин-попередників, клітини системи крові, гемопоез, проліферація, стовбурові клітини, кістковий мозок, мезенхіма, цитокіни.

2. Pakharenko M. V. Heterogeneity of hematopoietic progenitor cells in cell culture in vitro and in vivo in norm and in myelodysplastic syndrome. – Qualifying scientific work as a manuscript. Thesis for the degree of Doctor of Philosophy in the field of knowledge 09 "Biology" in the speciality 091 "Biology". National University of "Kyiv-Mohyla Academy", Kyiv, 2023. Experimental data from recent years suggest that malignant stem cells can exist as independent populations relative to cells that are at rest and do not respond at all to conventional cellular toxic agents. It is known that most stem cells in an adult organism are in the G0 state, which allows cells to stay in hematopoietic niches for a long time and, if necessary, proceed to proliferation. Due to being outside the cell cycle, stem cells are more resistant to DNA damage. This feature of "dormant" stem cells makes it possible to preserve the "gold reserve" from all sorts of stressful events and thereby promote treatment. At the same time, there is a population of hematopoietic progenitor cells, at the level of which the processes of proliferation and differentiation occur, since they are sensitive to the action of cytokines, which are ejected in the event of a shortage of blood cells in the periphery. The role of hematopoietic progenitor cells is underestimated, and it

turned out to be more significant than previously thought. Although more evidence of leukemia-initiating stem cells is emerging through the use of mouse models, less is known about changes at the level of stem cell compartment in patients with myelodysplastic syndrome (MDS). Although it is assumed that MDS is a “stem cell disease”, there is still no strong evidence of this statement, in addition, the level of damage to hematopoietic progenitor cells in patients with MDS, which constitute a whole group of progenitors that differ in their distance from the stem cell, remains unknown. In addition, despite the described chromosomal abnormalities, mutations and epigenetic changes in MDS observed in progenitors, the stages of development at which pathogenic events occur have not yet been determined. To solve these issues, new methodological approaches are needed to identify different types of progenitor cells and solve questions that can be answered through phenotyping and/or culturing early hematopoietic cells. The expediency of determining the morphological and functional parameters of hematopoietic progenitor cells from the bone marrow of mice, rats and humans is due to the need to deepen knowledge about the peculiarities of their functioning, to address the issue of heterogeneity of progenitor cells in different mammals and humans, as a general identification of the biological nature and potentials in cell culture in vitro and in vivo in normal and disorders of hematopoiesis. Therefore, the aim of the dissertation was to determine the heterogeneity of hematopoietic progenitor cells in vitro and in vivo to clarify their role in the formation of the pathological process in MDS-IB. To answer these questions, we studied the population of progenitor cells in patients with MDS-IB subtype. We studied hematopoietic stem cell cultures in vitro and in vivo. For the first time, a heterogeneous group of colony types (CFU-GEMM, CFU-G, CFU-GM and CFU-MM) was identified, the early representatives of which were characteristic of MDS-IB, and the later ones – of normal hematopoiesis. The optimal terms of cultivation of hematopoietic progenitor cells for humans (12-14 days), mice (10 days) and rats (8 days) were established. The response of progenitor cells to high doses of cytokines (G-CSF, GM-CSF, IL-3) and their combination in culture was analyzed, and it was found that the combination of these factors has the best effect, significantly increasing the efficiency of colony formation. The study of the cultural characteristics of progenitor cells in MDS-IB demonstrated a reduced ability to colony formation of the latter compared to the norm, where the number of cells in a clone did not exceed 50, and in the norm – 500. In addition, the qualitative composition of the colonies was characterized by the presence of chaotically arranged capricious cell forms. For the first time, it was demonstrated that the presence of a stromal substrate of healthy bone marrow cells does not affect the defectiveness of hematopoietic progenitor cells in MDS-IB. Key words: heterogeneity, myelodysplastic syndrome, method of cultivation in vitro and in vivo, kinetics of pathological process development in culture, cell mechanisms, cell morphology, growth factors, migration of progenitor cells, blood system cells, hematopoiesis, proliferation, stem cells, bone marrow, mesenchyme, cytokines.

Державний реєстраційний номер ДіР:

Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки: Фундаментальні наукові дослідження з найбільш важливих проблем розвитку науково-технічного, соціально-економічного, суспільно-політичного, людського потенціалу для забезпечення конкурентоспроможності України у світі та сталого розвитку суспільства і держави

Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності: Не застосовується

Підсумки дослідження: Теоретичне узагальнення і вирішення важливої наукової проблеми

Публікації:

- Білько Д.І., Чайковський Ю.Б., Руссу І.З., Пахаренко М.В., Лагоднюк І.Ю., Білько Н.М. Морфофункціональні характеристики гемопоетичних клітин-попередників кісткового мозку у гуманізованій культуральній системі in vivo. Фізіол. журн. 2022;68(2):14-22.
- Пахаренко М.В., Білько Д.І., Третяк Н.М., Стародуб Г.С., Лагоднюк І.Ю., Білько Н.М. Функціональна активність кровотворних клітин-попередників при мієлодиспластичному синдромі в умовах in vitro. Наукові записки НаУКМА. Біологія і екологія. 2020;3:48-52.

- Білько Д.І., Пахаренко М.В., Білько Н.М. Здатність до утворення колоній клітин-попередників кісткового мозку в культурі ex vivo хворих на мієлодиспластичний синдром. Наукові записки НаУКМА. Біологія і екологія. 2021;4:21-25.
- Білько Д.І., Пахаренко М.В. Особливості функціонування гемопоетичних клітин-попередників кісткового мозку хворих на мієлодиспластичний синдром у культурі in vitro і в гелевих дифузійних камерах in vivo. Наукові записки НаУКМА. Біологія і екологія. 2022;5:33-38.
- Стародуб Г.С., Кубарова В.О., Горяінова Н.В., Третяк Н.М., Гордієнко А.І., Басова О.В., Білько Н.М., Пахаренко М.В. Визначення ризику трансформації мієлодиспластичного синдрому в гостру мієлоїдну лейкемію за показником функціональної активності клітин кісткового мозку. Гематологія і переливання крові: Міжвідомчий збірник. 2021;41:259-269.

Наукова (науково-технічна) продукція:

Соціально-економічна спрямованість:

Охоронні документи на ОПІВ:

Впровадження результатів дисертації: Впровадження не планується

Зв'язок з науковими темами:

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Білько Надія Михайлівна

2. Nadiya Bilko

Кваліфікація: д. мед. н., професор, 03.00.01

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Національний університет "Києво-Могилянська академія"

Код за ЄДРПОУ: 16459396

Місцезнаходження: вул. Г. Сковороди, буд. 2, Київ, 04070, 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. Колибо Денис Володимирович

2. Denis Kolibo

Кваліфікація: д. б. н., професор, 03.00.03

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-8476-0992

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417288

Місцезнаходження: вул. Леонтовича, буд. 9, Київ, 01054, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Талько Вікторія Василівна
2. Viktoriya Talko

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

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Державна установа "Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України"

Код за ЄДРПОУ: 04837835

Місцезнаходження: вул. Юрія Іллєнка, буд. 53, Київ, 04050, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія медичних наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Бєлінська Ірина Василівна
2. Iryna Byelins'ka

Кваліфікація: д. б. н., доцент, 03.00.11

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Код за ЄДРПОУ: 02070944

Місцезнаходження: вул. Володимирська, буд. 60, Київ, 01033, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Рецензенти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Антонюк Максим Зиновійович
2. Maksym Antonyuk

Кваліфікація: д. б. н., професор, 03.00.15

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Національний університет "Києво-Могилянська академія"

Код за ЄДРПОУ: 16459396

Місцезнаходження: вул. Г. Сковороди, буд. 2, Київ, 04070, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

VIII. Заключні відомості

Власне Прізвище Ім'я По-батькові голови ради	Терновська Тамара Костянтинівна
Власне Прізвище Ім'я По-батькові головуючого на засіданні	Терновська Тамара Костянтинівна
Відповідальний за підготовку облікових документів	Басенко Олена Едуардівна
Реєстратор	УкрІНТЕІ

Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є відповідальним за реєстрацію наукової діяльності

Юрченко Тетяна Анатоліївна