Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0825U000287

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 16-01-2025

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Букреєва Тетяна Василівна
2. Tetiana V. Bukreieva

Кваліфікація:

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: 22275 ОСВІТНЬО-НАУКОВА ПРОГРАМА ПІДГОТОВКИ ДОКТОРІВ ФІЛОСОФІЇ В ГАЛУЗІ 09 БІОЛОГІЯ

Дата захисту: 30-10-2024

Спеціальність за освітою: 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 3459

Повне найменування юридичної особи: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 150, Київ, 03143, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

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

Повне найменування юридичної особи: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 150, Київ, 03143, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації: Українська

Коди тематичних рубрик: 34.43.35, 34.43.59, 62.33.31, 62.01.11

Тема дисертації:

1. Особливості впливу мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин пуповини на імунну систему хворих на пневмонію, спричинену коронавірусом SARS-CoV-2

2. Peculiarities of the effect of umbilical cord-derived multipotent mesenchymal stromal cells on the immune system of patients with pneumonia caused by the SARS-CoV-2 coronavirus

Реферат:

1. Букреєва Т.В. «Особливості впливу мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин пуповини на імунну систему хворих на пневмонію, спричинену коронавірусом SARS-CoV-2» – кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису. Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія (09 – Біологія) – Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ, 2024. Дисертація присвячена характеристиці динамічних змін в субпопуляціях імунних клітин в крові пацієнтів з гострим респіраторним дистрес-синдромом (ГРДС), спричиненим важкою пневмонією COVID-19, опису змін ступеню пошкодження легень, рівнів цитокінів, хемокінів та мікроРНК після трансплантації кріоконсервованих алогенних МСК пуповини та пошуку мішеней дії і можливих механізмів імудомодулюючого впливу МСК.

Реплікація SARS-CoV-2, збуднику коронавірусної хвороби COVID-19, призводить до прямого пошкодження тканин легень і розвитку ГРДС. Інфіковані вірусом клітини рекрутують Т-лімфоцити, моноцити і нейтрофіли, які вивільняють понаднормову кількість цитокінів. Крім того, у хворих змінюються рівні мікроРНК, залучених до відповіді на запалення. Таким чином, патогенез розвитку ГРДС при COVID-19 є результатом надмірної реакції імунної системи господаря. Дослідження змін у функціонування імунної системи хворих важливе для розуміння патофізіології коронавірусної хвороби і стратегії лікування, а нормалізація дисбалансу імунної системи та подалання наслідків ГРДС є перспективним завданням для ефективного лікування. МСК безпечні при застосуванні у клітинній терапії і можуть регулювати як вроджений, так і набутий імунітет через прямі міжклітинні взаємодії з імунними клітинами або паракринно через секрецію хемокінів, факторів росту та цитокінів. В данній роботі охарактеризовані МСК пуповини людини в розрізі їхнього застосування для терапії ГРДС при коронавірусній хворобі. Було показано, що повторні трансфузії МСКПЛ є безпечними і не мають істотних побічних ефектів. Доведено, що терапія МСК має довгострокове (до одного року) покращення стану легенів пацієнтів з ГРДС за даними КТ. Показано, що на початку хвороби присутні мієлоцитоз, лейко- та лімфопенія, які з початком лікування змінюються лейкоцитозом. Вперше описано підвищений вміст CD4+ і CD8+ регуляторних, активованих, виснажених та старіючих клітин пам'яті з 14 доби від початку госпіталізації. Вперше описано зростання вмісту подвійно позитивних Т клітин, CD127- та CD25-експресуючих Т-клітин, CD3+PD-1low і CD3-PD-1low Т-клітин, моноцитів та дендритних клітин протягом 28 діб. Популяція мієлоїдних клітин на ранньому етапі хвороби характеризується високим вмістом моноцитів, та низьким вмістом дендритних субпопуляцій. Протягом лікування спостерігалося поступове зниження вмісту моноцитів з одночасним зростанням відсотку дендритних клітин, що свідчить про розвиток набутого імунітету. Вперше виявлено достовірно вищі відносні рівні експресії miR-221-3p, miR-27a-3p, miR-133a-3p і miR-126-3p на початку госпіталізації пацієнтів із ГРДС, спричиненим SARS-CoV-2. Проведено порівняння клінічних та молекулярних показників у хворих з ГРДС при COVID-19, які проходили традиційну терапію з хворими, як отримували стандартну терапію разом з трьома послідовними інфузіями МСКПЛ. В короткостроковому періоді було показано, що терапія МСК стимулює відновлення рівня лімфоцитів та прискорює зниження С-реактивного білка, швидкості осідання еритроцитів та паличкоядерних нейтрофілів та призводить до достовірного зростання в плазмі хворих вмісту протизапального цитокіну IL-10 та прозапальних хемокінів IP-10, MIP-1α та G-CSF. Виявлено, що терапія МСК не має достовірного впливу на відносний рівень експресії мікроРНК, що асоційовані з запаленням, в плазмі крові хворих з ГРДС. Дані експериментів in vitro демонструють, що під впливом МСКПЛ в МКПК хворих з ГРДС посилюється експресія генів, залучених до розвитку імунної відповіді, зокрема активації нейтрофілів, міграції лейкоцитів і фагоцитозу, і знижується експресія генів, пов'язаних з апоптозом, збільшується експресія CD69 як маркера ранніх Т-клітин і CD25 як маркера середньої стадії серед субпопуляцій CD3+ та зменшується відсоток ефекторних, старіючих ефекторних CD8 і CD4 Т-клітин і CD8 Т-клітин пам'яті. В результаті виконання даної дисертаційної роботи було охарактеризовано динамічні зміни рівнів про- та протизапальних цитокінів, хемокінів та рівнів мікроРНК протягом 28 діб у хворих з ГРДС, спричиненим SARS-CoV-2, після трансплантації МСКПЛ та порівняно дані з групами контролю та відносно здорових донорів. Встановлено, що трьохкратна внутрішньовенна трансплантація МСКП з інтервалом в 3 доби в дозі 1 × 106 клітин/кг маси тіла на ранній/ середній стадії захворювання на ГРДС, спричиненим SARS-CoV-2, є безпечною, не викликає суттєвих побічних негативних ефектів, має імуномодулюючий вплив на перебіг запального процесу та призводить до суттєвого зниження рівня фіброзу легень (в 12 разів) через 1 рік спостереження.

2. Bukreieva T.V. Peculiarities of the effect of umbilical cord-derived multipotent mesenchymal stromal cells on the immune system of patients with pneumonia caused by the SARS-CoV-2 coronavirus – qualifying scientific work on the right of a manuscript. The thesis for a scientific degree of Doctor of Philosophy by speciality 091 – Biology (09 – Biology) – Institute of Molecular Biology and Genetics NAS of Ukraine, Kyiv, 2024. The dissertation is devoted to the characterization of dynamic changes in the subpopulations of immune cells in the peripheral blood of patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS) caused by severe COVID-19 pneumonia, the characterization of lung damage degree changes, levels of cytokines, chemokines and miRNAs after transplantation of cryopreserved

allogeneic umbilical cord-derived MSCs, and the search of MSC action targets. Replication of SARS-CoV-2 caused coronavirus disease COVID-19 and leads to direct damage of lung tissue and the development of ARDS. Infected cells recruit T-lymphocytes, monocytes, and neutrophils, which release excessive amounts of cytokines. Changes in miRNAs associated with inflammation were also observed. Thus, the pathogenesis of ARDS during COVID-19 is the result of an overreaction of the host's immune system. The study of changes in the patients' immune system functions is important for understanding the pathophysiology of COVID-19 and the treatment strategy, and normalizing the imbalance of the immune system and reducing the consequences of ARDS is a promising task for effective treatment. MSCs are safe when used in cell therapy and can modulate both innate and adaptive immunity through direct intercellular interactions with immune cells or by paracrine effect via the secretion of chemokines, growth factors, and cytokines. In this work, human UC-MSCs are characterized in context of their application for ARDS therapy dirung COVID-19. Repeated transfusions of UC-MSC have been shown to be safe and have no significant side effects. It has been proven that MSC therapy has a long-term (up to one year) improvement in lungs fibrosis in ARDS patients according to CT scans. It is shown that the presence of myelocytosis, leukopenia, and lymphopenia in early disease stages, shifting to leukocytosis during treatment. For the first time, we showed an increased content of CD4+ and CD8+ regulatory, activated, exhausted, and senescent memory cells from the day 14 after hospitalization; and an increase in the content of double-positive T cells, CD127- and CD25-expressing T cells, CD3+PD-1low and CD3-PD-1low T cells, monocytes and dendritic cells during 28 days. This research highlights the initial predominance of monocytes and low levels of dendritic cells, followed by a shift indicating adaptive immunity development. For the first time, significantly higher relative expression levels of miR-221-3p, miR-27a-3p, miR-133a-3p, and miR-126-3p were detected at the beginning of hospitalization of patients with ARDS caused by SARS-CoV-2. When comparing clinical and molecular indicators in patients with ARDS with traditional therapy and with three consecutive infusions of UC-MSC, the latter showed accelerated recovery of lymphocytes and the reduction of C-reactive protein level, erythrocytes sedimentation rate and banded neutrophils count, and a significant increase in the content of the anti-inflammatory cytokine IL-10 and pro-inflammatory chemokines IP-10, MIP- 1□ and G-CSF. MSC therapy did not significantly affect the relative expression levels of inflammation-associated miRNAs in blood plasma. In vitro experiments revealed that UC-MSCs promote the expression of genes involved in the development of the immune response, the activation of neutrophils, leukocyte migration and phagocytosis in the PBMC of patients with ARDS, while reducing the expression of genes related to apoptosis, and increase the expression of early-activated CD69 marker in T cells and intermediate-stage CD25 marker among CD3+ subpopulations with a decrease in percentages of effector, senescent effector CD8 and CD4 T cells, and memory CD8 T cells. Overall, this dissertation established that triple intravenous transplantation of MSCs with an interval of 3 days at a dose of 1 million of cells per kilo of body weight in the early/middle stage of ARDS caused by SARS-CoV-2 is safe, does not cause significant side effects, and has an immunomodulatory effect, leading to a significant reduction in lung fibrosis after 1 year of observation.

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:

- Bukreieva, T., Kyryk, V., Nikulina, V., Svitina, H., Vega, A., Chybisov, O., Shablii, I., Mankovska, O., Lobyntseva, G., Nemtinov, P., Skrypkina, I., & Shablii, V / Dynamic changes in radiological parameters, immune cells, selected miRNAs, and cytokine levels in peripheral blood of patients with severe COVID-19. Biomedical reports, 2023, 18(5), 33. DOI:10.3892/br.2023.1615.

- Navakauskienė, R., Žukauskaitė, D., Borutinskaitė, V. V., Bukreieva, T., Skliutė, G., Valatkaitė, E., Zentelytė, A., Piešinienė, L., & Shablii, V. Effects of human placenta cryopreservation on molecular characteristics of placental mesenchymal stromal cells. Frontiers in bioengineering and biotechnology 2023, 11, 1140781. DOI:10.3389/fbioe.2023.1140781
- Bukreieva, T., Svitina, H., Nikulina, V., Vega, A., Chybisov, O., Shablii, I., Ustymenko, A., Nemtinov, P., Lobyntseva, G., Skrypkina, I., & Shablii, V. Treatment of Acute Respiratory Distress Syndrome Caused by COVID-19 with Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells. International journal of molecular sciences,2023, 24(5), 4435. DOI:10.3390/ijms24054435

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

Соціально-економічна спрямованість: поліпшення якості життя та здоров'я населення, ефективності діагностики та лікування хворих

Охоронні документи на ОПІВ:

Впровадження результатів дисертації: Планується до впровадження

Зв'язок з науковими темами: 6541030

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Шаблій Володимир Анатолійович
2. Volodymyr Shablii

Кваліфікація: к. б. н., старший науковий співробітник, 03.00.22

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 150, Київ, 03143, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Сківка Лариса Михайлівна
2. Larisa M. Skivka

Кваліфікація: д.б.н., професор, 03.00.09

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-2171-1085

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

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Досенко Віктор Євгенович
2. Victor Dosenko

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

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-6919-7724

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Інститут фізіології ім.О.О.Богомольця НАН України

Код за ЄДРПОУ: 15417093

Місцезнаходження: , Київ, 01024, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Рецензенти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Півень Оксана Олександрівна
2. Oksana Puven

Кваліфікація: д. б. н., професор, 03.00.22

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-6468-649X

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 150, Київ, 03143, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Геращенко Анна Володимирівна
2. Anna V. Herashchenko

Кваліфікація: д. б. н., с.д., 03.00.22

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 150, Київ, 03143, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

VIII. Заключні відомості

Власне Прізвище Ім'я По-батькові голови ради	Оболенська Марія Юріївна
Власне Прізвище Ім'я По-батькові головуючого на засіданні	Оболенська Марія Юріївна
Відповідальний за підготовку облікових документів	Крупська І.В.
Реєстратор	УкрІНТЕІ
Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є відповідальним за реєстрацію наукової діяльності	Юрченко Тетяна Анатоліївна