Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0823U101554

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 30-11-2023

Статус: Наказ про видачу диплома

Реквізити наказу МОН / наказу закладу: Наказ №3 від 03.01.2024

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Кісєльова Ганна Геннадіївна
2. Hanna H. Kisielova

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCHID ID: 0000-0002-4803-4723

Вид дисертації: доктор філософії

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 222

Назва наукової спеціальності: Медицина

Галузь / галузі знань: охорона здоров'я

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: 222 Медицина

Дата захисту: 14-12-2023

Спеціальність за освітою: педіатрія

Місце роботи здобувача:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Сектор науки: Не застосовується

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): Д 64.242.01

Повне найменування юридичної особи: Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 03534630

Місцезнаходження: вул. Переяславська, буд. 23, Харків, Харківський р-н., 61016, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Сектор науки: Академічний

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

Повне найменування юридичної особи: Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 03534630

Місцезнаходження: вул. Переяславська, буд. 23, Харків, Харківський р-н., 61016, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Сектор науки: Академічний

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації: Українська

Коди тематичних рубрик: 34.03.33

Тема дисертації:

1. Обгрунтування використання толерогенних дендритних клітин, отриманих з кріоконсервованих попередників, у лікуванні аутоімунних захворювань (експериментальне дослідження).

2. Rationale for the use of tolerogenic dendritic cells obtained from cryopreserved progenitors in the treatment of autoimmune diseases (experimental study).

Реферат:

1. Дисертаційна робота присвячена вивченню особливостей впливу кріоконсервування за різними режимами на структурні і функціональні характеристики мононуклеарів (МНК) кісткового мозку та дендритних клітин (ДК) отриманих з них in vitro. Суттєва увага в роботі приділяється оцінці толерогенного потенціалу отриманих з кріоконсервованих МНК ДК, а саме, здатності мінімізувати прояви у мишей ад'ювантного артриту (АА) як експериментальної моделі ревматоїдного артриту (РА) у людини. В роботі було використано

наступні сучасні методи досліджень: кріоконсервування, культивування in vitro, проточна цитофлуориметрія, ПЛР в реальному часі, імуномагнітне сортування клітин, інвертована та світлова мікроскопія. Відпрацьовано метод виділення з кісткового мозку мишей CBA/H 20-тижневого віку МНК у градієнті тразографу, який дозволяє отримати більш ніж 40 % клітин, серед яких 12 % становили CD14+-моноцити – попередники ДК. Визначені умови отримання з МНК кісткового мозку ДК з толерогенними властивостями методом культивування in vitro в присутності ГМ-КСФ (20 нг/мл), ІЛ-4 (5 нг/мл) та дексаметозону (0,4 мкг/мл). Це дозволило одержати 96% клітин – кандидатів у ДК з високим рівнем життєздатності (92%). Для підтвердження незрілого толерогенного фенотипу ДК, отриманих в культурі, було підібрано панель маркерів для цитофлуориментричного аналізу. Встановлено, що диференціювання моноцитів у незрілі ДК супроводжується появою характерного для цих клітин маркера – CD11b, втратою CD14-антигена і мінімізацією рівня експресії костимуляторних молекул CD80, CD86. Продемонстровано, що важливою складовою патогенезу АА є дисрегуляція функції імунної системи на тлі розбалансування цитокінового профілю з переважним зростанням вмісту прозапальних цитокінів (ІЛ-6, ФНП-α, ІФН-γ) і дисфункції Т- регуляторної (Трег) ланки імунітету. Такі зміни супроводжувались підвищенням клініко-лабораторних показників: рівня сіалових кіслот, серомукоїдів, та індексу артриту (ІА). Вивчено вплив різних режимів (Р) кріоконсервування під захистом 10% ДМСО з повільною швидкістю охолодження: 1 град /хв до – 80°С (Р1); до – 40°С (Р2); до – 25°С (Р3) з наступним зануренням у кожному випадку у рідкий азот (-196 °С) на структурні та функціональні властивості МНК кісткового мозку. Показано, що змінюючи умови кріоконсервування можна збільшити толерогенний потенціал отриманих для імунотерапії ДК. Вперше доведено, що кріоконсервування МНК за розробленим режимом (Р2) у порівнянні із загальноприйнятим (Р1) забезпечував максимальні показники їх життєздатності, метаболічної активності, та вмісту CD14+ - попередників ДК, разом з високою експресією білків теплового шоку Hsp70 – індукторів їх толерогенної активності. Оцінка функціонального потенціалу ДК отриманих in vitro з кріоконсервованих МНК за Р2 продемонструвала більш високу їх толерогенну активность. Підтверджено, що підвищення вмісту Hsp70 в них сприяло збільшенню формування Т-регуляторних клітин (CD4+CD25+ та FOXP3+) і їх функіонального потенціалу за рахунок активації гена foxp3. Це призводило до зниження клінічної маніфестації аутоімунної патології у тварин. Встановлено пролонгований ефект імунотерапії дендритними клітинами, отриманими з кріоконсервованих за Р2 МНК. Аналіз вмісту CD4+CD25+- та FOXP3+-клітин, рівня експресії гена foxp3 і ІА на 7 і 14 добу після застосування різного виду толДК показав, що покращення клінічного статусу тварин з АА більшою мірою корелює з вмістом FOXP3+ Т-регулятрних клітин, ніж рівнем експресії гена foxp3. Продемонстрована здатність толДК отриманих з кріоконсервованих МНК корегувати порушений цитокіновий профіль з переважним стимулюванням продукції протизапальних цитокінів (ІЛ-4, ІЛ-10) і нормалізацією клінічного стану тварин з АА. Зіставлення ступеня інгібіції прозапальних і стимуляції протизапальних цитокінів після різного виду толДК-терапії свідчить про їхню здатність реалізувати різноспрямовану і з різним ступенем активність по відношенню до цих цитокінів. Вперше встановлені переваги ДК з кріоконсервованих попередників, особливо за режимом 2 в прояві імунокорегуючої дії в порівнянні з ДК отриманими з нативних МНК. Отримані в роботі результати можуть бути використані лікарями-клініцистами які опановують і впроваджують методи клітинно-тканинної терапії в практику лікування АІЗ, в тому числі РА. Представлений матеріал демонструє можливість використання ультранизьких температур як «інструмента», що здатний спрямовано керувати толерогенним потенціалом ДК, отриманих з клітин-попередників.

2. The dissertation is devoted to the study of the features of the cryopreservation effect under different regimes on the structural and functional characteristics of bone marrow mononuclear cells (MNC) and dendritic cells (DC) obtained from them in vitro. Considerable attention is paid to the assessment of the tolerogenic potential of DCs obtained from cryopreserved MNCs, namely, the ability to minimize the manifestations of adjuvant arthritis (AA) in mice as an experimental model of rheumatoid arthritis (RA) in humans. The following modern research methods were used in the work: cryopreservation, in vitro cultivation, flow cytofluorimetry, real-time PCR, immunomagnetic cell sorting, inverted and light microscopy. A method of isolating MNCs from the bone marrow

of 20-week-old SBA/H mice in a trasograph gradient was developed, which allows obtaining more than 40% of cells, among which 12% were CD14+ monocytes - DC precursors. It was established that the differentiation of monocytes into immature DCs is accompanied by the appearance of a marker characteristic for these cells - CD11b, the loss of the CD14 antigen and the minimization of the level of expression of costimulatory molecules CD80, CD86. It has been demonstrated that an important component of the pathogenesis of AA is the dysregulation of the function of the immune system (IS) against the background of an imbalance of the cytokine profile with a predominant increase in the content of pro-inflammatory cytokines (IL-6, TNF-□, IFN-□) and dysfunction of the T-regulatory (Treg) link of immunity. Such changes were accompanied by an increase in clinical and laboratory indicators: the level of sialic acids, seromucoids, and the index of arthritis (IA). The influence of different modes (P) of cryopreservation under the protection of 10% DMSO with a slow cooling rate was studied: 1 degree / min to - 80°C (P1); up to - 40°C (P2); to -25°C (P3) followed by immersion in liquid nitrogen (-196°C) in each case for the structural and functional properties of bone marrow MNC. It is shown that changing the conditions of cryopreservation can increase the tolerogenic potential of DCs obtained for immunotherapy.

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: Впровадження нових технологій та обладнання для якісного медичного обслуговування, лікування, фармацевтики

Підсумки дослідження: Нове вирішення актуального наукового завдання

Публікації:

- 1. Goltsev AM, Yampolska KYe, Kisielova HG, Ostankov MV, Dubrava TG, Babenko NM, et al. Cryopreservation as Biotechnological Application of Dendritic Cells in Clinical Practice. Probl Cryobiol Cryomed. 2021;31(4):289–303.
- 2. Kysielova H, Yampolska K, Dubrava T, Lutsenko O, Bondarovych M, Babenko N, et al. Improvement of bone marrow mononuclear cells cryopreservation methods to increase the efficiency of dendritic cell production. Cryobiology. 2022;106:122-30.
- 3. A.M. Goltsev, H.H. Kisielova. Justification of therapeutic efficacy of dendritic cells derived from cryopreserved precursors in an adjuvant arthritis model. World of Medicine and Biology. 2023; 2(84):197–202.
- 4. Kisielova HG, Dubrava TG, Goltsev AM, Heat Shock Proteins as Key Triggers to Form Cryopreserved Progenitors-Derived Tolerogenic Dendritic Cells. Probl Cryobiol Cryomed. 2023; 33(2):144–149.
- 5. Кісєльова ГГ, Дубрава Т.Г , Гольцев А.М. Порушений цитокіновий профіль при ад'ювантному артриті – терапевтична мішень для дендритних клітин, що отримані з кріоконсервованих попередників. Innov Biosyst Bioeng. 2023;7(3):32–43.

Наукова (науково-технічна) продукція:

Соціально-економічна спрямованість:

Охоронні документи на ОПІВ:

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. Гольцев Анатолій Миколайович

2. Anatoliy M. Goltsev

Кваліфікація: д. мед. н., академік НАН України, 14.01.35

Ідентифікатор ORCHID ID: 0000-0002-5289-5876

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 03534630

Місцезнаходження: вул. Переяславська, буд. 23, Харків, Харківський р-н., 61016, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Сектор науки: Академічний

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Лядова Тетяна Іванівна

2. Tetiana I. Liadova

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

Ідентифікатор ORCHID 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:

Сектор науки: Університетський

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Коляда Тетяна Іванівна

2. Koliada Tetiana I.

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

Ідентифікатор ORCHID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Державна установа "Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України"

Код за ЄДРПОУ: 02012208

Місцезнаходження: вул. Пушкінська, буд. 14-16, Харків, Харківський р-н., 61057, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія медичних наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Сектор науки: Академічний

Рецензенти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Висеканцев Ігор Павлович
2. Igor P. Vysekantsev

Кваліфікація: к. мед. н., старший науковий співробітник, 14.01.35

Ідентифікатор ORCHID ID: 0000-0001-8069-0336

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 03534630

Місцезнаходження: вул. Переяславська, буд. 23, Харків, Харківський р-н., 61016, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Сектор науки: Академічний

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Бабійчук Владислав Георгійович
2. Vladyslav G. Babijchuk

Кваліфікація: д. мед. н., старший науковий співробітник, 14.01.35

Ідентифікатор ORCHID ID: 0000-0002-3341-5822

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 03534630

Місцезнаходження: вул. Переяславська, буд. 23, Харків, Харківський р-н., 61016, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Сектор науки: Академічний

VIII. Заключні відомості

Власне Прізвище Ім'я По-батькові голови ради	Компанієць Антоніна Михайлівна
Власне Прізвище Ім'я По-батькові головуючого на засіданні	Компанієць Антоніна Михайлівна
Відповідальний за підготовку облікових документів	Фалько Оксана Валеріївна
Реєстратор	УкрІНТЕІ
Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є відповідальним за реєстрацію наукової діяльності	Юрченко Тетяна Анатоліївна