

Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0824U002742

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 25-07-2024

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:



II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Білоус Василь Леонідович

2. Vasil L. Bilous

Кваліфікація: аспірант, пров.інж

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-7411-6300

Вид дисертації: доктор філософії

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 091

Назва наукової спеціальності: Біологія

Галузь / галузі знань: біологія

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: 48026 Освітньо-наукова програма 091 Біологія

Дата захисту: 16-09-2024

Спеціальність за освітою: Біохімія

Місце роботи здобувача: 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:

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): ДФ 09.091.04

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:

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

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:

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації: Українська

Коди тематичних рубрик: 31.27

Тема дисертації:

1. Молекулярні механізми розвитку патологічних станів рогівки та розробка підходів до їх корекції
2. Molecular mechanisms of corneal pathologies and development of approaches for their correction

Реферат:

1. Дисертація присвячена дослідженню молекулярних механізмів розвитку патологічних станів рогівки, індукованих різними чинниками, вплив яких асоційований з розвитком гіпоксії, запального процесу та неоваскуляризації. Оскільки порушення аваскулярності рогівки є загрозливим станом, що призводить до погіршення зору або його повної втрати, на сьогоднішній день пошук нових ефективних і безпечних модуляторів судиноутворення є актуальною проблемою сучасної біохімії, біомедицини та клінічної офтальмології. Об'єктом дослідження дисертаційної роботи є молекулярні механізми розвитку неоваскулярних захворювань рогівки, спричинених лужним опіком та хронічною алкоголізацією, а також механізми протекторної дії ангіостатинів і тіаміну. Отже, мету роботи було сформульовано наступним чином: з'ясувати молекулярні механізми розвитку патологічних станів рогівки та розробити підходи до їх корекції. Для виконання поставлених у дисертаційній роботі завдань було використано сучасні біохімічні та

імунохімічні методи, а саме: гель-електрофорез протеїнів, імуноблотинг, імуноензимний аналіз, афінну хроматографію, ензим-форез (желатинова зимографія), спектрофотометричні методи, гістологічні методи, а також методи культивування еукаріотичних клітин, імунізація тварин та отримання поліклональних антитіл, визначення ступеня неоваскуляризації за шкалою Ефрона, методи статистичної обробки результатів. У роботі було досліджено ефекти фізіологічних інгібіторів неоваскуляризації, ангіостатинів (K1-3, K5), які пригнічують ангіогенез через специфічне інгібування проангіогенного сигналіngu в ендотелійних клітинах та володіють протизапальними властивостями. У представленій роботі вперше встановлено, що ангіостатини проявляють широкий спектр протекторних ефектів у рогівці. Зокрема, вперше було показано, що ангіостатини дозозалежним чином сприяють зменшенню рівнів протеїнів-маркерів, асоційованих з гіпоксією (HIF-1 α), ангіогенезом (VEGF), ремоделюванням і фіброзом тканин (MMP-9), автофагією (Beclin-1), щільністю міжклітинних контактів (ZO-1), а також стресом ендоплазматичного ретикулуму (GRP-78) як основних ланок патологічного процесу. Також продемонстровано протекторні ефекти ангіостатинів щодо клітин сателітної глії в травмованій рогівці. Вперше показано, що ангіостатини регулюють рівень протеїну ACE2, який слугує рецептором вірусу SARS-CoV-2, та знижують рівень рецептора за uszkodження рогівки. Вперше доведено відсутність цитотоксичних ефектів ангіостатинів на клітини пігментного епітелію сітківки за терапевтичного діапазону концентрацій (2–100 нМ), що показано у дослідах на культурі клітин RPE. Вперше показано, що введення тіаміну (25 мг/кг маси тіла) щурам з хронічною алкогольною інтоксикацією чинить коригувальну дію, зменшуючи наслідки токсичних ефектів етанолу в рогівці. Вперше встановлено, що вітамін B1 сприяє збільшенню співвідношення BclxL/Bax – показника, який свідчить про інгібування апоптозу та підсилення життєздатності клітин у тканині рогівки за умов токсичного впливу етанолу. Новими є результати, які доводять нейропротекторні властивості тіаміну в рогівці щурів за умов тривалого споживання етилового спирту, що проявляється в нормалізації вмісту нейрональних маркерів (NF-H, p-протеїну та Neu-N), а також зменшенні рівня активації сателітної глії та експресії відповідного маркера GFAP. Отримані результати стосовно антиангіогенної дії ангіостатинів та їхніх плейотропних ефектів у рогівці за її пошкодження можуть слугувати основою для створення основи нових лікарських препаратів для терапії захворювань поверхні ока, асоційованих із запаленням та надмірною неоваскуляризацією. Застосування ангіостатинів може бути перспективним засобом для нормалізації стану тканини рогівки під час операцій з кератопластики для створення умов для більш ефективного приживлення трансплантату. Результати, що доводять антиапоптотичні та нейропротекторні властивості тіаміну, можуть бути корисними для розробки нових вітамінних препаратів як ефективних засобів корекції офтальмологічних проявів хронічної алкогольної інтоксикації. Застосування отриманих у роботі поліклональних антитіл до лактоферину може стати основою для розробки нових неінвазивних діагностичних методів, заснованих на імунохімічній детекції рівня лактоферину в слізній рідині, що зробить лікування пацієнтів з травмами ока більш персоналізованим. Отримані дані створюють теоретичне підґрунтя для використання ряду протеїнів-біомаркерів для оцінки ступеня деструктивних змін у рогівці за її травмування як основи неінвазивної діагностики з використанням слізної рідини.

2. The dissertation is devoted to the study of molecular mechanisms of the development of pathological conditions of the cornea, induced by various factors, the influence of which is associated with the development of hypoxia, inflammation, and neovascularization. Since corneal avascularity is a threatening condition that leads to deterioration of vision or its complete loss, today the search for new effective and safe modulators of angiogenesis is an urgent problem of modern biochemistry, biomedicine and clinical ophthalmology. The object of research of the dissertation is the molecular mechanisms of the development of neovascular diseases of the cornea caused by alkaline burns and chronic alcoholism, as well as the mechanisms of the protective action of angiostatins and thiamine. Therefore, the aim of the work was formulated as follows: to find out the molecular mechanisms of the development of pathological conditions of the cornea and to develop approaches to their correction. Modern biochemical and immunochemical methods were used to fulfill the tasks set in the dissertation, namely: protein gel electrophoresis, immunoblotting, immunoenzymatic analysis, affinity chromatography, enzyme phoresis (gelatin zymography), spectrophotometric methods, histological methods, as well as methods of eukaryotic cultivation

cells, immunization of animals and obtaining polyclonal antibodies, determination of the degree of neovascularization according to the Efron scale, methods of statistical processing of results. The work investigated the effects of physiological inhibitors of neovascularization, angiostatsins (K1-3, K5), which suppress angiogenesis through specific inhibition of proangiogenic signaling in endothelial cells and have anti-inflammatory properties. In the presented work, it was established for the first time that angiostatsins exhibit a wide range of protective effects in the cornea. In particular, it was shown for the first time that angiostatsins in a dose-dependent manner contribute to a decrease in the levels of marker proteins associated with hypoxia (HIF-1 α), angiogenesis (VEGF), tissue remodeling and fibrosis (MMP-9), autophagy (Beclin-1), intercellular tight contacts (ZO-1), as well as endoplasmic reticulum stress (GRP-78) as the main links of the pathological process. The protective effects of angiostatsins on satellite glia cells in the injured cornea have also been demonstrated. For the first time, angiostatsins were shown to regulate the level of the ACE2 protein, which serves as a receptor for the SARS-CoV-2 virus, and to reduce the level of the receptor in corneal damage. For the first time, the absence of cytotoxic effects of angiostatsins on cells of the retinal pigment epithelium in the therapeutic range of concentrations (2–100 nM) was proven, which was shown in experiments on RPE cell culture. For the first time, it was shown that administration of thiamine (25 mg/kg body weight) to rats with chronic alcohol intoxication has a corrective effect, reducing the consequences of the toxic effects of ethanol in the cornea. It was established for the first time that vitamin B1 contributes to an increase in the ratio of BclxL/Bax – an indicator that indicates the inhibition of apoptosis and the strengthening of the viability of cells in the tissue of the cornea under the conditions of the toxic effect of ethanol. New are the results that prove the neuroprotective properties of thiamine in the cornea of rats under the conditions of long-term consumption of ethyl alcohol, which is manifested in the normalization of the content of neuronal markers (NF-H, α -protein and Neu-N), as well as a decrease in the level of activation of satellite glia and the expression of the corresponding GFAP marker. The obtained results regarding the antiangiogenic effect of angiostatsins and their pleiotropic effects in the damaged cornea may serve as a basis for creating a new drugs for treatment of ocular diseases associated with inflammation and neovascularization. The use of angiostatsins can be a promising tool for normalizing the condition of the corneal tissue during keratoplasty. The results proving the anti-apoptotic and neuroprotective properties of thiamine may be useful for the development of new vitamin preparations as effective means of correcting the ophthalmic manifestations of chronic alcohol intoxication. The use of polyclonal antibodies to lactoferrin obtained in the work can become the basis for the development of new non-invasive diagnostic methods based on immunochemical detection of the level of lactoferrin in tear fluid, which will make the treatment of patients with eye injuries more personalized. The obtained data create a theoretical basis for the use of a number of protein-biomarkers to assess the degree of destructive changes in the cornea due to its trauma as a basis for non-invasive diagnostics using tear fluid.

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:

- I. V. Gavrylyak, N. K. Greben, V. L. Bilous, V. V. Korska, D. G. Zhaboiedov, C. A. Ağca, 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>
- V. L. Bilous, L. G. Kapustianenko, A. A. Tykhomyrov. Production and application of angiostatsins 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>

- A. Tykhomyrov, O. Yusova, L. Kapustianenko, V. Bilous, T. Drobotko, I. Gavryliak, N. Greben, C. A. Ağca. 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>
- 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.
- V. L. Bilous, L. G. Kapustianenko, O. I. Yusova, V. V. Korska, 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>
- 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>
- 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, (in press).

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

Соціально-економічна спрямованість: 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: 0117U004344, 0118U000377, 0123U100516

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Тихомиров Артем Олександрович

2. Artem O. Tykhomyrov

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

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0003-2063-4636

Додаткова інформація: Scopus Author ID: 23502292700

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:

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Яремчук Ольга Зеновіївна
2. Olga Z. Yaremchuk

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

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0001-5951-1137

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України

Код за ЄДРПОУ: 02010830

Місцезнаходження: Майдан Волі, буд. 1, Тернопіль, Тернопільський р-н., 46001, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство охорони здоров'я України

Ідентифікатор ROR:

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Ушакова Галина Олександрівна
2. Galyna O. Ushakova

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

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-5633-2739

Додаткова інформація:

[;https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=7004018560](https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=7004018560);<https://publons.com/researcher/2298331/galyyna-ushakova/>

Повне найменування юридичної особи: Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара

Код за ЄДРПОУ: 02066747

Місцезнаходження: проспект Науки, буд. 72, Дніпро, Дніпровський р-н., 49045, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

Рецензенти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Колибо Денис Володимирович
2. Denys V. Kolybo

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. Косякова Галина Василівна

2. Halyna V. Kosiakova

Кваліфікація: к. б. н., с.д., 03.00.04

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-1214-2044

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:

VIII. Заключні відомості

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

Дробот Людмила Борисівна

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

Дробот Людмила Борисівна

**Відповідальний за підготовку
облікових документів**

Білоус Василь Леонідович

Реєстратор

УкрІНТЕІ

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



Юрченко Тетяна Анатоліївна