

ВІДЗИВ ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

на дисертаційну роботу **БІЛОЇ ГАЛИНИ ІГОРІВНИ**
«УЧАСТЬ НЕЙТРОФІЛЬНИХ ПОЗАКЛІТИННИХ ПАСТОК У
ЗАПАЛЬНИХ ПРОЦЕСАХ ТВАРИН ЗА ДІЇ НАНОЧАСТИНОК», поданої до
захисту на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 –
Біологія (Галузь знань 09 – Біологія)

Дисертаційна робота Білої Г.І. присвячена **актуальній проблемі** – з'ясуванню ролі ендогенних та екзогенних наночастинок (НЧ) в індукції запальних процесів у тілі тварин. Більш конкретно, в роботі досліджено участь нейтрофільних позаклітинних пасток (НПП) в цих процесах, а також використання НЧ для впливу на утворення НПП. На думку здобувачки, отримані результати дозволять розробити засоби таргетного впливу на нейтрофільні гранулоцити для використання НЧ, здатних індукувати НПП, діючи в складі вакцин нового покоління.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконано в лабораторії імунології Інституту біології тварин НААН і на кафедрі гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького в рамках кількох науково-дослідних робіт вітчизняних програм, а також кількох міжнародних програм, зокрема гранту №97744 фундації Фольксваген (ФРН) «Важливість ензимів нейтрофільного походження для процесингу ауто-антигенів та модулювання запального впливу», гранту програми Horizon2020–FETOPEN за проектом NeutroCure №861878 «Розробка «розумних» підсилювачів реакційно здатних сполук кисню специфічних для аномальних поліморфноядерних нейтрофілів для лікування запальних та аутоімунних захворювань, раку та мієлосупресії».

Об'єкт і предмет дослідження сформульовані правильно.

Мета дисертаційної роботи полягала у з'ясуванні питання, як нейтрофільні гранулоцити впливають на розвиток запальних процесів організму тварин при взаємодії з НЧ, зокрема, при взаємодії з ендогенними НЧ, які утворюються за

літогенних дієт, наприклад, із високим вмістом холестерину та фруктози. Крім того, метою роботи було дослідити роль нейтрофілів в ушкодженні тканин печінки, а також при взаємодії з екзогенними інертними НЧ. Це дозволило б визначити можливість використання індукованої запальної реакції для посилення імунної відповіді на введені антигени.

Завдання дослідження налічують 7 пунктів, що свідчить про масштабність і різноплановість проведеної роботи.

Методи дослідження (імунобіохімічні, гістологічні, цитологічні, імуногістохімічні, біохімічні, біоінформатичні) відповідають різноплановому характеру дисертаційної роботи.

Наукова новизна результатів досліджень, проведених авторкою дисертаційної роботи, полягає, перш за все, у комплексному підході до проведення запланованих досліджень. Зокрема, визначено особливості впливу ендогенних НЧ за використання дієт із високим вмістом фруктози та холестерину. Вони полягають в ушкодженні тканин печінки за участі нейтрофільних гранулоцитів, що супроводжується зростанням активності еластази нейтрофілів у крові, появи нейтрофільних гранулоцитів у мазках жовчі із жовчних міхурів мишей. Авторка використала модель експериментальних щурів, позбавлених жовчного міхура, що дозволило довести, що ушкодження тканин печінки за високохолестеринової дієти не залежить від наявності жовчного міхура чи оклюзії основних вивідних жовчних проток, тобто ушкодження печінки є результатом оклюзії дрібних збірних жовчних каналців. Цей висновок важливий для визначення стратегії терапії пацієнтів-людей після видалення жовчних каменів/проток/міхура.

Вперше продемонстровано, що за літогенних дієт змінюється профіль гліканів імуноглобулінів із експонуванням фукози у складі глікану в корі молекули IgG із формуванням прозапальних імуноглобулінів.

Вперше встановлено, ушкодження печінки тварин за літогенних дієт що можна зупинити, штучно видаливши нейтрофільні гранулоцити з організму

тварин. За результатами проведеної роботи запропоновано два інгібітори НПП, здатні достовірно зменшити ушкодження печінки лабораторних тварин.

Вперше показано зростання імунної відповіді до синтетичних пептидів, зокрема пан-коронавірусних. Створено імуногенну суміш на основі пан-коронавірусних пептидів та НПП-індукувальних нанодіамантів, здатних забезпечити клітинну та гуморальну відповідь на дію SARS-CoV-2. Встановлено існування перехресного гуморального імунітету до коронавірусів та показано, що пептид HR2 домену S-білка здатний активувати утворення антитіл в організмі людини до різних видів коронавірусів і його структура є консервативною у нових мутованих штамів.

Описаний ефект посилення імунної відповіді шляхом активації НПП за допомогою екзогенних НЧ може стати основою для розробки ад'ювантів нового покоління. Крім того, отримані результати можуть слугувати поясненням виникнення запальних процесів і загострення хронічних запальних станів за дії таких забруднювачів як сажа, смог і пил.

Науково-практична цінність роботи. Створено модель неалкогольного стеатогепатиту (НАСГ) у мишей, що є ефективною вже за 4–6 тижнів, тоді як описані аналогічні моделі дозволяють виявити розвиток цієї патології за 12–16 тижнів. Це дозволяє ефективніше шукати шляхи лікування даного захворювання.

Розроблено спосіб розрізнення еозинофільних гранулоцитів та нейтрофільних гранулоцитів за допомогою флуоресцентної мікроскопії. Описаний метод вже був апробований в лікувальному процесі у ВП «Лікарня святого Миколая» у зв'язку з розвитком алергії до коров'ячого молока у дітей.

Удосконалено комплексний тест на основі Enhances liver fibrosis test (Siemens) для виявлення фіброзу печінки для діагностики ушкодження печінки. Для цього були отримані специфічні антитіла до гіалуронової кислоти.

Використано технологію аналізу флуоресценції *in vivo* для оцінки ефективності роботи гепатобіліарної системи. Метод базується на кількісному

аналізі рівня флуоресценції індоціану зеленого та швидкості переходу цього барвника із крові в жовч.

8 висновків, сформульованих за результатами проведених досліджень, є конкретними, добре обгрунтованими і витікають з даних, наведених у дисертаційній роботі.

Особистий внесок здобувачки. У 3-х із 7-ми наукових статей за темою дисертаційної роботи Біла Г.І. є на 1-му місці у списку співавторів, що свідчить про її важливий вклад у виконання запланованих досліджень та оформлення отриманих результатів.

Апробація результатів дисертації. Апробація основних результатів дисертаційної роботи відбулася на серії спеціалізованих міжнародних та всеукраїнських наукових форумів.

У списку публікацій за результатами дисертаційної роботи Білої Г.І. числиться 1 розділ у монографії видавництва Springer-Nature, 10 статей, серед яких 6 статей у фахових періодичних виданнях, у т.ч. 6 статей з вагомих імпаکت-фактором. У списку є також 17 тез наукових конференцій, серед яких 14 – це міжнародні конференції.

Структура дисертаційної роботи Білої Г.І. – традиційна: Вступ, Огляд літератури, опис Матеріалів і методів дослідження, опис Результатів власних досліджень та їх обговорення, Аналіз та узагальнення результатів дослідження, Висновки, Список використаних джерел літератури, що налічує 285 посилань, з них 271 латиницею. В роботі на 165 сторінках основного тексту наведено 84 рисунки, 6 таблиць і 3 додатки. Представлення результатів дослідження здійснене за послідовністю 7-ми завдань роботи. До кожного підрозділу зроблено коротке узагальнення. Аналіз та узагальнення результатів дослідження добре ілюстровані.

В цілому, дисертаційна робота Білої Г.І. виконана на високому науково-методичному рівні, добре оформлена і відмінно прорецензована в наукових журналах, в яких опубліковані отримані результати.

До окремих положень дисертаційної роботи можна висловити **зауваження**, переважно редакційні, а також висловити **побажання**. Вони викладені по мірі їхнього виявлення в тексті роботи.

1. На майбутнє авторці доцільно використовувати термін «імуноензимний аналіз» замість «імуноферментний аналіз», адже стосовно тварин і людини прийнято вживати термін «ензим», а не «фермент».

2. В тексті дисертаційної роботи дуже поширені деякі русизми, а саме: «при.....», правильно «за.....»; замість «за умов.....», правильно «за.....», «колоніє стимулюючий», правильно «колонієстимулювальний», «в якості» - правильно «як» та ін.

3. Відповідно до правил хімічної номенклатури правильно писати не «пропідій оксид», а «пропідію оксид», не «графен оксид», а «графену оксид» і т.п.

4. У наукових статтях переважно прийнято вживати безособову форму викладу, наприклад, «встановлено», «виявлено», тощо, а не «ми встановили», «ми виявили», тощо, тоді як в тексті дисертаційної роботи домінує особова форма викладу матеріалу, що, звичайно, не є помилкою, але є надмірним використанням особової форми.

5. За використання певних методів авторка вживає вираз «аналіз поляризаційною мікроскопією», правильно, «аналіз за допомогою поляризаційної мікроскопії» і т.п.

6. На стор. 35: «кон'югація з раковими препаратами» - правильно «кон'югація з протираковими препаратами».

7. Останній параграф розділу «Практичне значення отриманих результатів» (стор. 35) швидше за все відноситься до «Наукової новизни отриманих результатів».

8. Стор. 40: «здатні захоплювати сторонній матеріал» краще замінити на «здатні поглинати сторонній матеріал»; «попаданні в тіло» - краще «надходження в тіло». Стор. 53: «Нейтрофіли патрулюють тканини» - краще «нейтрофіли

здійснюють нагляд за тканинами». Стор. 60: «усі маніпуляції з тваринами» - краще «усі досліди з тваринами».

9. Деякі частини тексту роботи (див. стор 51) є занадто довгими і їх доцільно розділити абзацами.

10. В ряді випадків не вказано виробника і країну виробництва реагентів, наприклад, стор. 73.

11. При визначенні ролі тривалості досліду правильно «доба і доби», а не «день і дні».

12. Стор. 96: замість «значення в таблиці» краще «показники в таблиці».

13. Стор. 100: Замість «дискримінації гранулоцитів» краще «розрізнення гранулоцитів».

14. Стор. 109: пояснити, що означає « виявлення позитивного сигналу».

15. «M» і «m» у наведених величинах повинні мати однакові розмірності (знаки після коми).

16. Стор. 121: Інформацію про надання зразків тканин доцільно перенести в розділ «Матеріали і методи».

17. Стор. 130: Інформація про друк мікрофотографій на обкладинці журналу Праці НТШ. Медичні науки. згадується в тексті дисертаційної роботи мінімум 3 рази.

18. Стор. 191: вислів «збій обох ферментів» вимагає редакційної правки.

20. Роботи в списку цитувань за номерами 5, 9, 21, 26, 116, 119, 138, 209 не мають вказаних сторінок, а в роботі за №242 не вказано видавництво.

Висновок. На основі вищевикладеного вважаю, що дисертаційна робота Білої Г.І. **«УЧАСТЬ НЕЙТРОФІЛЬНИХ ПОЗАКЛІТИННИХ ПАСТОК У ЗАПАЛЬНИХ ПРОЦЕСАХ ТВАРИН ЗА ДІЇ НАНОЧАСТИНОК»** є завершеним оригінальним науковим дослідженням, яке за актуальністю, новизною, важливістю, достовірністю, а також практичною цінністю одержаних наукових результатів відповідає вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти,

наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022 року та Наказу МОН України «Про затвердження вимог до оформлення дисертації» № 40 від 12.01 2017 року, а її авторка, Біла Г.І., заслуговує присудження наукового доктора доктора філософії за спеціальністю 091 – Біологія (Галузь знань 09 – Біологія).

Офіційний опонент,

завідувач відділу регуляції проліферації клітин і апоптозу

Інституту біології клітини НАН України,

доктор біологічних наук, професор,

член-кореспондент НАН України

Стойка Р.С.

Львів, 18 липня 2023 р.