

ВІДЗИВ

на дисертаційну роботу Кучми Марії Дмитрівни «Порівняльна характеристика гемопоетичних стовбурових/прогеніторних клітин плаценти, пуповинної крові та фетальної печінки людини», представлену на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія

Актуальність теми. Пошук донорів кісткового мозку для трансплантацій гемопоетичних стовбурових/прогеніторних клітин (ГСПК) при вроджених порушеннях кровотворення, набутих анеміях та онкогематологічних захворюваннях – це тривала та високовартісна процедура, в той час як в більшості випадків пацієнтам потрібна термінова допомога. Пересадка алогенних ГСПК є широко розповсюдженою, оскільки менш ніж 30% потенційних реципієнтів мають HLA-ідентичних родичів. Потреба в HLA-сумісних ГСПК значною мірою перевищує можливості їх отримання. На сьогоднішній день в клінічній практиці для трансплантацій ГСПК також використовують «мобілізовану» периферичну та пуповинну кров. Все більше застосовують ГСПК пуповинної крові, однак вмісту ГСПК в одному зразку недостатньо для проведення трансплантацій в старшій віковій групі пацієнтів. Насьогодні заропоновано різні шляхи вирішення цієї проблеми, однак всі вони мають недоліки та в повній мірі її не вирішують. Тому надзвичайно актуальним є пошук нових додаткових джерел ГСПК.

Дисертаційна робота Кучми М.Д. присвячена дослідженню властивостей гемопоетичних стовбурових/прогеніторних клітин плаценти для оцінки можливостей їх клінічного застосування з метою терапії онкогематологічних захворювань та вроджених порушень кровотворення. Слід зазначити, що для кращого з'ясування властивостей ГСПК в роботі проводилось порівняння із ГСПК таких тканин, як пуповинна кров та фетальна печінка. Такий вибір об'єктів порівняння є дуже вдалим, оскільки ГСПК пуповинної крові вже широко використовується для трансплантацій, а фетальна печінка є активним органом плодового гемопоезу із найвищою концентрацією CD34-позитивних клітин серед гемопоетичних тканин.

Метою роботи дисертанта було вдосконалення методів виділення ГСПК із плаценти та встановлення факту можливості їх збереження при кріоконсервуванні, порівняльне дослідження імунофенотипу кровотворних клітин плаценти, пуповинної крові й фетальної печінки людини та їх колонієутворювальної здатності.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконано у рамках бюджетних наукових тем відділу генетики людини Інституту молекулярної біології і генетики НАН України.

Новизна і якість використаних для дослідження методів, наукова новизна, практичне значення одержаних результатів. Дисертаційна робота виконана на сучасному науковому та методичному рівні. Із доступних літературних джерел видно, що у світі лише декілька наукових колективів вивчає ГСПК плаценти, до того ж об'єктом їх досліджень є переважно плаценти ранніх строків гестації. Метод проточної цитофлуориметрії, FISH аналіз, імуноцитохімічне дослідження відноситься до арсеналу сучасних методів дослідження світового рівня. Визначення колонієутворювальної здатності ГСПК гемопоетичних тканин із використанням культурального середовища MethoCult (Stemcell Technologies, Канада) є загальноприйнятим. В дисертаційній роботі було використано достатню кількість матеріалу, що включав зразки зрілої плаценти, пуповинної крові, фетальної печінки 1 триместру гестації.

В дисертаційній роботі Кучми М.Д. вперше встановлена низка відмінностей між складом популяцій ГСПК плацентарної тканини та пуповинної крові. Вперше показано, що ГПК зрілої тканини плаценти містять більшу кількість міелоїдних та еритроїдних прогеніторних клітин у порівнянні із популяцією ГПК пуповинної крові, до того ж характеризуються більшою фенотиповою гетерогенністю. Слід відзначити, що модифікація виділення ГСПК із зрілої тканини та кріоконсервованої плаценти являються новими біотехнологічними підходами. Крім того, охарактеризовано імунофенотип ГСПК зрілої плаценти, який раніше в достатній мірі не досліджувався. Вперше

виявлено та описано новий тип колоній – ПЕК, які не описані в доступній літературі. Результати дисертаційної роботи обґрунтовують створення низькотемпературних банків плацентарної тканини. Розроблені біотехнологічні підходи можуть стати основою для створення технології отримання ГСПК із тканини зрілої плаценти.

Ступінь обґрунтованості наукових положень. Отримані наукові положення і висновки логічно випливають з фактичного матеріалу та обґрунтовані результатами проведених автором досліджень.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота побудована за традиційним принципом, має вступ, огляд літератури, всі необхідні розділи з результатами власних досліджень (два розділи), обговорення та узагальнення отриманих результатів, висновки, список використаних літературних джерел. Дисертаційна робота викладена на 129 сторінках друкованого тексту. Список використаної літератури охоплює 164 джерела. Робота добре ілюстрована 26 рисунками та 2 таблицями.

У вступі дисертантом обґрунтовано актуальність проведеного дослідження, визначено мету, завдання, об'єкт та предмет дослідження, наукову новизну та практичне значення одержаних результатів, показано зв'язок із науковими програмами та темами, зазначено особистий внесок та наведено перелік наукових конференцій, конгресів, з'їздів, на яких було апробовано результати роботи.

У літературному огляді представлені дані щодо імунофенотипу плацентарних ГСПК переважно перших двох триместрів гестації, детально описані імунофенотипові характеристики ГСПК пуповинної крові, фетальної печінки, які є добре дослідженими на сьогоднішній день, також наведено відомості про функціональну активність плацентарних ГСПК.

Розділ «Матеріали і методи досліджень» описує методи виділення клітин із тканини плаценти, пуповинної крові, фетальної печінки, кріоконсервування гемопоетичних тканини, культивування клітин, які були виділені із плаценти,

пуповинної крові у напівтвердих середовищах, проточної цитофлуориметрії, імуноцитохімічного дослідження, FISH аналізу та статистичної обробки даних.

У розділі 3 власних досліджень наведено результати порівняльного імунофенотипового аналізу ГСПК плацентарної тканини, пуповинної крові та фетальної печінки, описано спосіб виділення клітин із кріоконсервованої тканини зрілої плаценти.

Розділ 4 демонструє результати дослідження мультилінійного потенціалу *in vitro* для ГСПК плацентарної тканини та пуповинної крові. Описані виявлені дисертантом плоскі еритроїдні колонії в культурі гемопоетичних клітин плаценти, нативної та кріоконсервованої пуповинної крові, а також «мобілізованої» периферичної крові.

Узагальнення і аналіз отриманих результатів наведено у розділі 5. Розділ містить підсумки всіх отриманих результатів дослідження, логічно підводить роботу до конкретних висновків, які в свою чергу обґрунтовані результатами і відповідають меті і завданням дисертаційної роботи.

Особистий внесок здобувача. Викладені в дисертації результати було отримано автором особисто або за безпосередньої її участі.

Відповідність автореферату змісту дисертації. Матеріали дисертації адекватно відображені в авторефераті, який зі свого боку в достатній мірі віддзеркалює основні отримані результати.

Повнота викладення основного змісту в опублікованих працях у наукових виданнях. Основні положення роботи викладені у 7 наукових статтях, запатентовано спосіб отримання ГСПК із кріоконсервованої тканини плаценти (патент на корисну модель). Всі результати дисертаційної роботи Кучми М.Д. були апробовані на вітчизняних та міжнародних наукових форумах.

В порядку дискусії було б бажано отримати відповіді на такі питання:

1. Як Ви вважаєте, чи можлива експансія ГСПК у культурі із збереженням їх стоволовості та інших морфофункціональних властивостей?

2. Для лікування яких патологічних станів можуть бути використанні культури ГСПК?

3. Чи можливо використовувати культури ГСПК для вивчення фундаментальних питань клітинної біології. Якщо да, то яких?

Висновок. Дисертаційна робота Кучми Марії Дмитрівни «Порівняльна характеристика гемопоетичних стовбурових/прогеніторних клітин плаценти, пуповинної крові та фетальної печінки людини», представляє собою завершену працю, яка присвячена важливій науковій та практичній проблемі. За актуальністю, методичним забезпеченням, науковою новизною, достовірністю висновків та практичною цінністю робота відповідає вимогам ДАК МОН України, що пред'являються до кандидатських дисертацій, а її автор – Кучма Марія Дмитрівна – заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія.

Офіційний опонент:

заступник директора з наукової роботи,
завідувач лабораторією цитогенетики
ДУ «Інститут генетичної та регенеративної
медицини НАМН України»
доктор медичних наук, ст. наук. співр.



Новікова С.М.