

ВІДЗИВ

офіційного опонента

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 дисертаційної роботи Кучми М.Д. не викликає сумнівів – дослідження властивостей гемопоетичних стовбурових/прогеніторних клітин (ГСПК) зрілої плаценти вкрай необхідне для оцінки можливостей їхнього клінічного застосування з метою терапії онкогематологічних захворювань та вроджених порушень кровотворення. Потреба у пошуку нових додаткових джерел ГСПК для гематології обумовлена низкою недоліків тих джерел клітин, які вже застосовуються в медицині. Оскільки в останні роки встановлено важливу роль плаценти людини у фетальному гемопоезі, її стали вважати потенційним додатковим джерелом ГСПК для трансплантацій. Однак властивості ГСПК зрілої плаценти недостатньо вивчені. Відомі роботи головним чином зосереджені на гемопоезі в плаценті ранніх термінів гестації, що ще більше підкреслює актуальність даного дослідження. До того ж, дана дисертаційна робота торкається і питань ефективних методів виділення та зберігання ГСПК плаценти, що є надзвичайно важливими для розробки біомедичних технологій.

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

Наукова новизна, теоретичне та практичне значення одержаних результатів. Слід зазначити, що в роботі вперше проводився порівняльний аналіз плацентарних ГСПК із відповідними клітинами інших кровотворних тканин, які вже застосовуються для лікування захворювань кровотворення, що дозволяє краще зрозуміти потенціал досліджуваних клітин. Головним

аспектом наукової новизни дисертаційної роботи є виявлення певних відмінностей між складом популяцій ГСПК плацентарної тканини та пуповинної крові. В роботі встановлено, що кількість комітованих клітин серед плацентарних ГСПК достовірно вища, ніж серед відповідних клітин пуповинної крові. Показано, що для зрілої плаценти та плаценти першого триместру гестації властива більша фенотипова гетерогенність на відміну від відповідних клітин пуповинної крові та фетальної печінки.

Автором модифіковані методи виділення ГСПК плацентарної тканини та розроблений спосіб виділення ГСПК із кріоконсервованої тканини плаценти.

Новими є дані щодо імунофенотипу ГСПК зрілої плаценти у порівнянні із такими клітинами пуповинної крові, а саме: вищий рівень експресії CD90 на ГСПК, наявність субпопуляцій клітин із різною інтенсивністю експресії CD31 та подібна експресія CD133.

Охарактеризовані плоскі еритроїдні колонії, які вперше виявлені в умовах *in vitro* при культивуванні кровотворних клітин плаценти, пуповинної крові та периферичної «мобілізованої» крові.

Практичне значення одержаних результатів.

Результати дисертаційної роботи є передумовою для створення технології отримання ГСПК із зрілої плаценти людини. Отримані знання щодо властивостей плацентарних ГСПК обґрунтовують перспективність використання такого клітинного матеріалу в гематології, як додаткового до пуповинної крові джерела клітин для трансплантацій. Запропонований спосіб виділення ГСПК із кріоконсервованої тканини плаценти є підставою для створення низькотемпературних банків тканини.

Ступінь обґрунтованості.

Отримані наукові положення обґрунтовані результатами проведених автором досліджень. Висновки роботи є логічними, конкретними і повністю відповідають меті і завданням роботи.

Структура та обсяг дисертації.

Дисертація викладена на 129 сторінках друкованого тексту, містить вступ, огляд літератури, розділ матеріали і методи дослідження, 2 розділи власних досліджень, розділ узагальнення і аналіз отриманих результатів, висновки. Список використаної літератури включає 164 джерела. Ілюстративний матеріал дисертації подано у вигляді 26 рисунків та 2 таблиць.

Новизна і якість використаних для дослідження методів, репрезентативність отриманих результатів.

Матеріали і методи роботи сучасні, різноманітні, адекватно відповідають поставленим завданням та підтверджують достовірність представлених результатів. Слід відзначити достатню кількість ілюстрацій у тексті дисертації та автореферату.

Повнота викладення здобувачем основних результатів.

За матеріалами дисертації опубліковано 7 наукових статей, дві з яких у іноземних виданнях, отримано патент на корисну модель. Всі результати дисертаційної роботи Кучми М.Д. були представлені на престижних вітчизняних та міжнародних наукових конференціях, конгресах та з'їздах.

Відповідність автореферату змісту дисертації.

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

Зауваження щодо змісту дисертації.

1. З метою з'ясування впливу ферментативної обробки, що використовувалась для виділення ГПК з плацентарної тканини, на імунофенотип та колонієутворюючу активність ядровмісних клітин таким же чином обробляли мононуклеари пуповинної крові. Нажаль таку обробку не проводили при ізолюванні гемопоетичних клітин фетальної печінки, які також були обрані для порівняння. З цієї причини проведений порівняльний аналіз не є повністю коректним.
2. Окреме зауваження викликає обраний автором режим кріоконсервування, що застосовувався як для фрагментів тканин, так і для суспензій клітин – під

захистом 0,7 М ДМСО. Сучасна точка зору на банкінг тканин-джерел стовбурових клітин вимагає залучення таких режимів, які б забезпечували збереження максимальної кількості різних популяцій клітин-попередників, що наявні в даній тканині. Обрані автором тканини вже досить тривалий час є об'єктом ретельного дослідження з боку спеціалістів з низькотемпературного зберігання, як загалом у світі, так і у вітчизняній науці. Нажаль, у роботі не проведений ретельний аналіз даних літератури з цього питання, і застосована концентрація кріопротектора не є оптимальною для відповідних клітинних суспензій, як показано у багатьох роботах, в тому числі і вітчизняних. До того ж у дисертації не наведені кількісні дані щодо життєздатності клітин до і після кріоконсервування. Відсутність різниці у фенотипічних властивостях клітин до і після кріоконсервування не дозволяє судити про їхню життєздатність, а однакова спроможність формувати гемопоетичні колонії не враховує різної кріочутливості окремих популяцій клітин.

3. У тексті дисертації для одних й тих самих гемопоетичних колоній використовуються різні терміни – CFU-GEMM та CFU-Mix, BFU-E та CFU-V. Бажано було б, на мій погляд, роз'яснити ці розбіжності.

Однак зроблені зауваження не мають принципового значення і не зменшують наукову та практичну цінність результатів роботи.

Висновок

Дисертаційна робота Кучми Марії Дмитрівни «Порівняльна характеристика гемопоетичних стовбурових/прогеніторних клітин плаценти, пуповинної крові та фетальної печінки людини», є завершеною працею, в якій із використанням сучасних методів отримано нові важливі результати в галузі біотехнології, які у сукупності свідчать про те, що плацента може бути перспективним джерелом ГСПК для медичних цілей. За актуальністю, науковою новизною, обсягом виконаних досліджень, достовірністю висновків та практичною цінністю робота відповідає вимогам ДАК МОН України, що пред'являються до кандидатських дисертацій (п.11. «Порядку

присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника”), а її автор – Кучма Марія Дмитрівна – заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія.

Офіційний опонент:
завідувач відділу кріобіохімії
Інституту проблем кріобіології і
кріомедицини НАН України,
доктор біологічних наук, професор

Петренко О. Ю.

12.01.2016

