

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

доктора медичних наук, професора, академіка НАН України Гольцева Анатолія Миколайовича, директора Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України, на дисертаційну роботу Нікольської Катерини Ігорівни «Стимуляція регенерації імунної системи опромінених мишей трансплантацією гемопоетичних стовбурових клітин і прогеніторів, преінкубованих з мультипотентними стромальними клітинами тимуса», представлену на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.08 – імунологія та алергологія

Актуальність обраної теми, її зв'язок із державними чи галузевими науковими програмами, пріоритетними напрямками розвитку науки й техніки.

Вивчення імунобіології стовбурових клітин у теперішній час є одним із основних трендів наукової роботи в біології і медицині. Гемопоетичні стовбурові клітини (ГСК) дають початок всім паросткам гемопоезу, в процесі якого виникають клітини-попередники і зрілі гемопоетичні клітини різних типів, які разом формують клітинний склад системи природного і адаптивного імунітету. Самовідновлення, вихід у диференціювання, проліферативна активність і міграція ГСК регулюються діяльністю мультипотентних стромальних клітин (МСК), головними механізмами якої визнана міжклітинна МСК–ГСК контактна взаємодія і продукція цитокінів. Ясно, що регулююча дія МСК на ГСК може бути використана для підвищення ефективності ГСК у формуванні і регенерації імунної системи. Цей напрямок є одним із найбільш актуальних в імунобіології ще й тому, що має велике практичне значення для розвитку клітинної трансплантології з наступним удосконаленням методів імунотерапії. Ще більшого практичного значення робота набуває завдяки певним кріобіологічним дослідженням, які відкривають можливість накопичення необхідної кількості клітин. Саме вивченню впливу контактної взаємодії МСК–ГСК на

імунорегенеративну активність ГСК присвячена дисертаційна робота Катерини Ігорівни Нікольської.

Треба також відзначити, що у проведених експериментах вивчалася і імунорегенеративна активність самих МСК – питання, що має окреме і велике теоретичне і практичне значення для імунобіології і медицини.

В основу досліджень покладена модель радіаційного імунодефіциту, індукованого летальним опроміненням мишей СВА. Кістковомозковий синдром, що розвивається в результаті спустошення кісткового мозку, загибелі ГСК з неможливістю поповнення імунної системи новими клітинними елементами, здатними до захисту організму, стає причиною розвитку опортуністичної інфекції, яка іде із кишківника і має фатальні наслідки для організму. Не викликає сумнівів, що за умов загибелі ГСК практично єдиним ефективним методом відновлення гемопоєзу і імунної системи є трансплантація ГСК і прогеніторів, із яких диференціюються всі типи зрілих імунних клітин.

Другим і оригінальним методичним підходом автора є моделювання контактної взаємодії ГСК і МСК *in vitro*, що проявляється формуванням фібробласто-лімфоцитарних розеток і що, як встановлено, призводить до підвищення імунобіологічної, регенеративної і радіозахисної дії ГСК і прогеніторів.

Таким чином, робота є актуальною і практично важливою.

Дисертаційну роботу виконано в лабораторії імунології відділу клітинних та тканинних технологій ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України» відповідно до НДР № 01070008763 «Вивчити особливості направлено диференціювання стовбурових клітин та клітин-попередників в нейрональні, ендотеліальні клітини та остеобласти/остеокласти з метою їх подальшого застосування для трансплантації», № 0110U002200 «Вивчити деякі механізми взаємодії мультипотентних стромальних і гемопоетичних стовбурових клітин та залежні від їх властивостей процеси диференціювання лімфоцитів», № 0113U000102 «Вивчити механізми імунокорекції при спільному

застосуванні гемопоетичних стовбурових і мультипотентних стромальних клітин».

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність і новизна.

Обґрунтованість і достовірність наведених в роботі результатів підтверджується використанням адекватних сформульованій меті і поставленим задачам експериментальних моделей, ряду сучасних культуральних, імунологічних і статистичних методик.

Наукова новизна, теоретична і практична значимість дисертації.

Встановлено, що МСК тимуса і гемопоетичні клітини (клітини фетальної печінки, лімфатичних вузлів і тимоцити) мають виражену мембранну спорідненість, через яку і опосередковується контактна взаємодія клітин. *In vitro* це проявляється формуванням фібробласто-лімфоцитарних розеток, які мають вигляд асоціації, що складається із центрально розташованої МСК і приєднаних до неї клітин гемопоетичного рідус. З використанням отриманих даних про зазначену мембранну спорідненість розроблений експериментальний підхід до впливу МСК на ГСК через міжклітинний контакт. В результаті уперше встановлено, що внаслідок преінкубації *in vitro* з МСК тимуса значно зростає імунологічна, регенеративна і радіозахисна активність ГСК і прогеніторів кісткового мозку і фетальної печінки. Це проявляється тим, що в результаті трансплантації преінкубованих з МСК ГСК суттєво підвищується виживаність опромінених тварин, ефективніше відновлюється клітинність тимуса і кількість лімфоцитів у периферичній крові, а також більш виражено стимулюється природний, клітинний і гуморальний адаптивний імунітет.

Суттєва новизна притаманна і даним, отриманим при вивченні ефектів трансплантованих МСК тимуса. Пріоритетними є результати про підвищення виживаності опромінених мишей в результаті трансплантації цих клітин, що може реалізовуватися завдяки відновленню клітинності тимуса і кісткового мозку із стимуляцією утворення фібробластних колоній, природного і адаптивного імунітету.

Отримані про властивості трансплантованих МСК дані, як і встановлена стимуляція активності ГСК преінкубацією з МСК тимуса безумовно мають фундаментальну наукову новизну.

Результати досліджень мають також і практичне значення. Перш за все треба відзначити, що в експериментальній лабораторній роботі і у клінічних лабораторіях може бути впроваджена нова методика – відтворення ФЛР, як з досліджуваними гемопоетичними клітинами (із кісткового мозку, периферичної крові) і стандартними МСК, так і з досліджуваними МСК (із кісткового мозку, судинно-стромальної фракції та ін.) і стандартними гемопоетичними клітинами. Оскільки автором роботи показано, що здатність клітин до утворення ФЛР не порушується при кріоконсервування, цей підхід можна застосовувати для накопичення і зберігання необхідної кількості клітин.

Отримані дані по стимуляції ГСК їх преінкубацією з МСК можна покласти в основу прикладних досліджень по створенню трансплантатів ГСК з більшою активністю.

На рівень прикладних досліджень можна перевести і вивчення регенеративної і радіозахисної активності МСК. Біотехнологічні підходи до використання різних комбінації МСК і ГСК полегшуються можливістю створення клітинних кріобанків.

Повнота викладу основних результатів дисертації в наукових фахових виданнях із врахуванням встановлених вимог.

Отримані результати повністю викладені в 25 опублікованих наукових працях, серед яких 7 статей у наукових фахових виданнях (у т.ч. з них 2 статті у виданні, що входить до наукометричної бази даних Scopus), 4 статті у інших наукових виданнях, 2 патенти на корисну модель, 12 тез доповідей на фахових вітчизняних і міжнародних наукових конференціях.

Дисертація і автореферат в цілому добре написані і відредаговані. Автореферат повністю відображає зміст дисертації і її основні положення, не містить положень, які не досліджені в роботі.

При ознайомленні з дисертацією принципових зауважень не виникло. Є

наступні та запитання до дисертанта:

1. Яким чином може здійснюватися контактна взаємодія ГСК і МСК.
2. Які, на думку автора, основні механізми дії трансплантованих МСК?

Загальний висновок.

В цілому дисертаційна робота Нікольської К.І. «Стимуляція регенерації імунної системи опромінених мишей трансплантацією гемопоетичних стовбурових клітин і прогеніторів, преінкубованих з мультипотентними стромальними клітинами тимуса» виконана на високому науковому рівні і має завершений характер.

За актуальністю і перспективністю теми, рівнем виконання, науковою новизною отриманих результатів і достовірністю висновків, а також практичною цінністю робота Нікольської К.І. повністю відповідає вимогам до кандидатських дисертацій, викладених у «Порядку присудження наукових ступенів» (Постанова Кабінету Міністрів України № 567 від 24 липня 2013 року, зі змінами) та регламентуючим документам Міністерства освіти і науки України, а її автор – **Нікольська Катерина Ігорівна** заслуговує на присудження їй наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.08 – Імунологія та алергологія (Медичні науки).

Офіційний опонент:

директор Інституту проблем кріобіології і
кріомедицини Національної академії наук України,
доктор медичних наук, професор,
академік НАН України

