

## ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу **Кладницької Лариси Володимирівни «Морфофункціональні властивості стовбурових клітин та їх вплив на пухлинний процес»**, подану до спеціалізованої вченої ради Д 26.004.03 у Національному університеті біоресурсів і природокористування України на здобуття наукового ступеня доктора ветеринарних наук зі спеціальності 16.00.02 «Патологія, онкологія і морфологія тварин»

**Актуальність обраної теми.** Здійснення ефективної ветеринарної діяльності може базуватися на сучасних принципах та методах лікування тварин, підґрунтям яких є нові розробки та наукові дані. Особливе місце належить дослідженням стовбурових клітин у сучасних наукових колах, чисельність яких значна та збільшується кожного року. Як відомо, застосування стовбурових клітин здійснюють за різноманітних патологічних процесів, зокрема, ішемічної хвороби серця, автоімунних захворювань, хворобі трансплантат проти власника, хронічному гепатиті і цирозі печінки, запаленні легень, септичних процесів тощо. Ряд аспектів застосування стовбурових клітин, особливо у дрібних домашніх тварин, залишається не з'ясованими. Насамперед, кількість досліджень з використанням стовбурових клітин у собак та, особливо, котів, незначна. Відсутні стандарти визначення критичних характеристик стовбурових клітин тваринного походження. Остаточно не розроблені ефективні підходи виділення і отримання стовбурових клітин тварин різних видів, недостатньо охарактеризований їх антигенний спектр, клітинний цикл, морфологічні, функціональні показники, особливості ліпідного обміну, що є ключовим фактором у процесах проліферації і підтримання їх основних морфологічних та функціональних характеристик.

Особливе місце належить питанню оцінки канцеропротективного, модуляторного, метаболічного впливу на організм реципієнта інокульованих стовбурових клітин з терапевтичним спрямуванням. Однак, в літературі є лише поодинокі дослідження, проведені у цьому напрямі, і на теперішній час отримані суперечливі результати, що вказують як на здатність стовбурових клітин пригнічувати пухлинний ріст, так і сприяти його промоції. Саме ці актуальні питання і досліджені автором дисертаційної роботи.

Отже, в умовах сьогодення передумовою успішного застосування стовбурових клітин з терапевтичною метою є їх усебічне дослідження і, у тому числі, на безпечність.

За останні роки в такому форматі вітчизняними та зарубіжними авторами приводились окремі, не узагальнені повідомлення, які практично не враховувались у практичній ветеринарній медицині, тоді як рецензована робота за повнотою, методичним забезпеченням досліджень є комплексною зі сформованими конкретними висновками та виконана на належному фундаментальному і прикладному рівні.

Практично новим є те, що пошукач Кладницька Лариса Володимирівна своїми дослідженнями довела, що морфологічні та функціональні властивості стовбурових клітин змінюються у процесі культивування, а їх системний вплив на організм призводить до активізації експериментально змодельованого пухлинного процесу за показниками метастазування, клітинного циклу, апоптозу, вмісту анеуплоїдів у первинній пухлинній тканині.

Успішно виконані та завершені експериментальні дослідження без сумніву підтверджують правильність та актуальність такого вибору, оскільки вивчення морфологічних та функціональних властивостей стовбурових клітин за різних пасажів дає теоретичне підґрунтя для практикуючих лікарів щодо оцінки біологічного матеріалу, щодо застосування з терапевтичною метою. Отримання наукових даних щодо впливу стовбурових клітин на пухлинний процес доповнює уявлення про їх механізм дії та дає підставу досліджувати реципієнтів на предмет наявності новоутворень в організмі реципієнта.

Науковий консультант та докторант визначили не тільки для наукової, а й для виробничої розробки надзвичайно актуальну проблему, яка стосується досліджень морфологічних, функціональних властивостей стовбурових клітин та їх впливу на організм реципієнтів з перещепленою карциномою легені Льюїс.

**Зв'язок роботи з державними науковими програмами, планами, темами.** Завдання наукового пошуку виходять з програми із програми науково-дослідних держбюджетних тем Національного університету біоресурсів і природокористування України: «Вивчення морфофункціональних характеристик патологічно змінених тканин у тварин-реципієнтів при застосуванні стовбурових клітин» (номер державної реєстрації 0111U003428, 2011–2015 рр.); «Дослідити особливості коригуючої дії введених стовбурових клітин на патологічно змінені структури і функції тканин в організмі тварин-реципієнтів» (номер державної реєстрації 0115U003476, 2015–2017 рр.); «Розробити нові способи стимуляції процесів відновлення ушкоджених тканин опорно-рухового апарату домашніх тварин методами клітинної терапії» (номер державної реєстрації 0118U000307, 2018–2020 рр.). Отже. таке продумане

формулювання актуальних і перспективних завдань наукового пошуку, що пов'язані з Програмою держзамовлення, дає міцне підґрунтя для подальших досліджень, а також є передумовою отриманих Кладницькою Л. В. нових даних, які одночасно мають як високу наукову так і практичну цінність. Усе вказане підкреслює актуальність обраної теми, вказує на її новизну, визначає науково-методичний рівень і практичну значимість проведених досліджень.

**Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і пропозицій, сформульованих у дисертації.** Пошукачем чітко сформульовано мету досліджень – дослідити морфофункціональні властивості стовбурових клітин тварин та їх системний вплив на пухлинний процес. Мета досліджень дисертаційної роботи Кладницької Л. В. повністю відповідає науково-практичному значенню досліджуваної проблеми, отже, робота виконана за спеціальністю 16.00.02 «Патологія, онкологія і морфологія тварин».

Поставлені завдання, зокрема, удосконалити умови виділення та культивування стовбурових клітин культури жирової тканини тварин (собаки, коня, миші), нервової тканини (кота), червоного кісткового мозку (миші) в умовах *in vitro*; встановити морфологічні та функціональні властивості стовбурових клітин культури жирової тканини та кісткового мозку за ранніх і пізніх пасажів культивування *in vitro*; дослідити клітинний цикл та каріотипову стабільність клітин культур жирової тканини та червоного кісткового мозку за ранніх і пізніх пасажів культивування *in vitro*; визначити імунотип стовбурових клітин культури жирової та нервової тканини з використанням імуноцитохімічних реакцій детекції мембранних та внутрішньоклітинних білків, характерних для клітин з низьким ступенем диференціації; встановити біологічну активність клітин культур жирової, нервової тканини, червоного кісткового мозку за показниками жирнокислотного складу ліпідів; дослідити характер проліферативних змін клітин за показниками активності сукцинатдегідрогенази мембран мітохондрій печінки тварин-реципієнтів за трансплантації стовбурових клітин *in vivo*; вивчити характер системної та клітинної імунної відповіді організму тварин-реципієнтів *in vivo* за трансплантації мезенхімних стовбурових клітин за клітинними, ваговими параметрами лімфоїдних органів та активністю перитонеальних макрофагів; дослідити параметри росту, метастазування перещепленої карциноми за дії стовбурових клітин на моделі швидко прогресуючої карциноми легені Льюїс; визначити вплив трансплантації мезенхімних стовбурових клітин культури кісткового мозку на клітинний цикл, апоптоз, рівень генетичної стабільності клітин первинної пухлини карциноми легені Льюїс у скелетній м'язовій тканині миші на моделі швидко прогресуючої карциноми легені Льюїс; дослідити патоморфологічні зміни структури первинної пухлинної тканини карциноми легені Льюїс у скелетній м'язовій



тканині миші за впливу алогенних мезенхімних стовбурових клітин культури кісткового мозку на моделі швидкопрогресуючої карциноми легені Льюїс, повністю розкривають шляхи реалізації визначеної мети.

Лариса Володимирівна визначила пріоритети досліджень за обраною темою та спрямувала їх на вирішення конкретних завдань. Виклад фактичного матеріалу проведено згідно поставленої мети і завдань дисертації.

Обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій дисертації та їх достовірність підтверджується високим методичним рівнем поставлених експериментів, логічністю та послідовністю виконаних трьох етапів досліджень, адекватністю застосованих методів досліджень поставлених меті та завданням роботи. Дисертаційна робота Кладницької Л.В. відзначається високим рівнем наукових результатів та висновків, що підтверджуються об'єктивністю і сукупністю експериментального матеріалу та проведеними дослідженнями з використанням методів експериментального моделювання (відтворення та моніторинг росту і метастазування карциноми легені Льюїс), культивування клітин *in vitro*, морфологічних, цитологічних препаратів культур клітин, гістологічних препаратів пухлин, морфометричний аналіз), цитологічні (цитофлуориметричне визначення диплоїдних та анеуплоїдних клітин та відсотковий вміст клітин за фазами клітинного циклу, визначення ядерно-цитоплазматичного співвідношення та морфологічних ознак клітин за ранніх

і пізніх пасажів культивування, дослідження життєздатних та апоптичних клітин), імунологічні (імуноцитохімічне визначення експресії антигенів, дослідження клітинності і вагового індексу імунних органів, функціональної активності перитонеальних макрофагів), біохімічні (визначення жирно-кислотного складу ліпідів мембран, визначення активності сукцинат-дегідрогенази мембран мітохондрій печінки, біохімічних показників сироватки крові), зоотехнічних (визначення маси тіла, пухлини, тимусу, селезінки, параметрів метастазів), статистичних (визначення середніх величин та їх похибок, рівня достовірності, кореляційний, однофакторний дисперсійний аналіз) досліджень.

Рівень достовірності та обґрунтованості наукових положень, викладених у дисертації підтверджується використанням сучасних статистичних методів (визначення середніх величин та їхніх похибок, t-тест, кореляційний і дисперсійний аналізи) згідно яких опрацьовано цифровий матеріал.

Наукові положення, висновки і пропозиції виробництву повністю обґрунтовані і відповідають отриманим результатам власних досліджень дисертанта.

Отримані Кладницькою Л.В. результати досліджень дають можливість установам ветеринарної медицини, які спеціалізуються на

культивуванні клітин, удосконалювати технологію отримання біологічного матеріалу для трансплантації та досліджувати його якісні параметри. Для практикуючих лікарів ветеринарної медицини фундаментальні результати досліджень дають чітке підґрунтя щодо обстеження реципієнтів стовбурових клітин на наявність гіперплазії на предмет її виключення перед трансплантацією.

На основі вище наведеного можна зробити висновок, що ступінь обґрунтованості наукових положень висновків і рекомендацій, які виходять із результатів досліджень у дисертації, є достатньо високим і не викликають сумніву.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Запропоновані пошукачкою схема і робочий план експериментальних досліджень дозволили їй отримати нові результати для ветеринарної науки і практики. Наукові положення, які викладені у дисертації, ґрунтуються на отриманих результатах дослідження та глибокому аналізі й узагальненні даних літератури та сформульовані вперше, що засвідчує новизну, теоретичне і практичне значення. Дисертантом проведено комплексне дослідження морфологічних і функціональних властивостей стовбурових клітин за різних пасажів культивування та їх вплив на експериментально змодельований пухлинний процес в тварин-реципієнтів.

Уперше розроблено новий метод отримання стовбурових клітин культури жирової тканини собаки, коня, миші та визначено оптимальний склад середовища для її кріоконсервування. Уперше розроблено метод отримання стовбурових клітин нервової тканини kota. Встановлено, що жирова тканина більшого сальника і підшкірна є придатною для отримання адгезивної фракції моноклеарних клітин з високою проліферативною активністю. Жирова тканина більшого сальника у якості первинного матеріалу дає більший вихід адгезивної фракції моноклеарних клітин з високою проліферативною активністю та має найкращі функціональні властивості. Уперше проведено оптимізацію умов обробки та отримання стовбурових клітин культури червоного кісткового мозку миші.

Отримано нові наукові дані щодо морфології та функціонального стану стовбурових клітин культури червоного кісткового мозку та жирової тканини, які змінюються у процесі культивування, що засвідчує початок реплікативного старіння з 4 та 7 пасажів відповідно.

Уперше визначено вміст стовбурових клітин культури червоного кісткового мозку та жирової тканини за фазами клітинного циклу та вміст анеуплоїдів за ранніх та пізніх пасажів культивування. Доведено, що культура клітин червоного кісткового мозку та жирової тканини на пізніх пасажах характеризуються достовірно більшим вмістом анеуплоїдних клітин та зменшенням кількості клітин проліферативного пулу  $G_2/M+S$ .

Отримано нові наукові дані щодо імунофенотипу стовбурових клітин культури жирової та нервової тканини. Доведено причинно-наслідкову залежність експресії ядерних та цитоплазматичних білків стовбурових клітин та збільшення пасажів культивування: віментин  $\eta^2=0,73$  ( $p<0,05$ ), актин  $\eta^2=0,79$  ( $p<0,05$ ), Е-кадгерин  $\eta^2=0,87$  ( $p<0,01$ ), CD44  $\eta^2=0,74$  ( $p<0,05$ ), Ki-67  $\eta^2=0,83$  ( $p<0,05$ ), PCNA  $\eta^2=0,83$  ( $p<0,05$ ).

Уперше встановлено, що стовбурові клітини культури червоного кісткового мозку, жирової та нервової тканини мають спільні риси спектру жирних кислот, що характерно для клітин з високим проліферативним потенціалом, резистентних до апоптозу; високе співвідношення мононенасиченої олеїнової до насиченої стеаринової кислоти (C18:1/C18:0), яке становить 1,50–2,18 і характеризує активність ферменту стеарил-коензим А-десатурази та активний стан Wnt/ $\beta$ -катенін сигнального шляху; нездатність до подовження ланцюга насичених жирних кислот.

Уперше визначено, що стовбурові клітини культури червоного кісткового мозку мають відмінності за складом поліненасичених жирних кислот порівняно з такими жирової і нервової тканини: більший вміст ненасичених жирних кислот ( $p<0,05$ ),  $\omega 6$  жирних кислот ( $p<0,05$ ) та менший вміст  $\omega 3$  жирних кислот ( $p<0,05$ ).

Уперше в дослідях *in vivo* встановлено, що трансплантація стовбурових клітин культури жирової тканини та кісткового мозку спричинює підвищення активності сукцинатдегідрогенази мітохондрій гепатоцитів мишей-реципієнтів, що вказує на збільшення їх мітотичної активності; короточасного збільшення відносного індексу маси тимусу і селезінки тварин-реципієнтів і вмісту в них лімфоїдних клітин, які поступово відновлюються до норми; підвищення активності НАДФ-Н<sub>2</sub>-оксидази моноцитів, макрофагів.

Уперше доведено, що за системного впливу алогенних мезенхімних стовбурових клітин у тварин-реципієнтів з експериментально змодельованим пухлинним процесом збільшується маса первинної пухлини, загальний об'єм метастазів, відбувається швидший перехід пухлинного процесу до васкулярної стадії з більшим показником кількості метастазів розміром 1,0–3,0 мм, що засвідчує активізацію пухлинного процесу. Доведено причинно-наслідкову залежність трансплантації стовбурових клітин на загальний об'єм метастазів із показником сили впливу  $\eta^2x=0,74$  ( $p<0,05$ ).

Отримано нові наукові дані щодо зниження генетичної стабільності клітин первинної пухлини мишей C57BL/6 з перещепленою метастатичною карциномою легені Льюїс за впливу стовбурових клітин, що характеризується збільшенням кількості анеуплоїдів у первинній пухлині –  $76,68 \pm 1,99\%$  ( $p<0,001$ ) та їх кількості серед клітин проліферативного пулу G<sub>2</sub>/M+S –  $68,02 \pm 3,42\%$  ( $p<0,001$ ), що засвідчує злоякісніший фенотип клітин первинної пухлини.



Уперше встановлено, що застосування алогенних мезенхімних стовбурових клітин культури кісткового мозку в мишей C57BL/6 з трансплантованою метастатичною карциномою легені Льюїс призводить до порушення механізмів запрограмованої загибелі клітин первинної пухлини через зниження апоптозу до  $41,82 \pm 1,37\%$  ( $p < 0,001$ ),  $\eta^2_x = 0,88$  ( $p < 0,001$ ),

що засвідчує активізацію пухлинного процесу.

Наукову новизну отриманих результатів підтверджено патентами України на корисну модель «Спосіб отримання мезенхімальних стовбурових клітин з жирової тканини собаки» №109148 (2015.01) та «Спосіб отримання нейральних стовбурових клітин kota» №109148 (опубліковано 12.12.2016; Бюл. № 23. 4 с.)

### **Практична цінність одержаних результатів досліджень**

Запропоновані нові методи отримання стовбурових клітин культури жирової та нервової тканини, удосконалений метод отримання стовбурових клітин культури червоного кісткового мозку можуть бути використані для отримання стовбурових клітин тварин різних видів.

Результати дослідження морфологічних, функціональних властивостей, клітинного циклу стовбурових клітин, вмісту анеуплоїдів у культурах клітин за різних пасажів культивування можуть слугувати критеріями якісної оцінки клітинного матеріалу для трансплантації з терапевтичною метою та забезпечать теоретичне підґрунтя для подальших наукових досліджень у цьому напрямі.

Отримані наукові дані щодо системного впливу алогенних мезенхімних стовбурових клітин у тварин-реципієнтів з експериментально змодельованим пухлинним процесом доповнюють сучасні дані щодо його перебігу та забезпечують підґрунтя для проведення ретельного обстеження, спрямованого на виявлення прихованої онкологічної патології, враховуючи здатність мезенхімних стовбурових клітин активувати та прискорювати процеси канцерогенезу.

Основні положення дисертації впроваджено в навчальний процес і науково-дослідну роботу кафедр: нормальної та патологічної фізіології тварин Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З.Гжицького; нормальної та патологічної фізіології тварин Білоцерківського національного аграрного університету; анатомії, нормальної та патологічної фізіології Сумського національного аграрного університету; фізіології, біохімії та мікробіології Одеського державного аграрного університету; нормальної та патологічної фізіології тварин Харківської державної зооветеринарної академії; фізіології та біохімії сільсько-господарських тварин Дніпровського державного аграрно-економічного університету; фізіології, біохімії і морфології Подільського державного аграрно-технічного університету.

За результатами досліджень розроблено та впроваджено у практику методичні рекомендації «Методи видоспецифічної оцінки стовбурових клітин та їх застосування у ветеринарній клітинній регенеративній медицині» (затверджено Вченою радою Національного університету біоресурсів і природокористування України, протокол № 5 від 27.12.2017 р.).

**Обґрунтування теми і достовірність результатів проведених досліджень, повнота їх викладу в опублікованих працях.** Для розкриття теми дисертаційної роботи, вважаю достатньою кількість проведених досліджень, в т. ч. оригінальних, що підтверджує їх цінність для науки і практики. Робота розкриває теоретичне та практичне підґрунтя застосування стовбурових клітин, методи їх отримання та морфофункціональні характеристики за різних пасажів культивування, що власне актуалізує вибір теми.

У дисертації Кладницької Л. В. методично вірно відпрацьовані підходи до розв'язання поставленої мети проведення досліджень. Матеріали та методи досліджень для вирішення поставлених задач дали можливість одержати науково обґрунтовані дані; математична обробка отриманих результатів дала можливість встановити достовірність проведених досліджень.

Результати досліджень представлено у 53 наукових працях. Кладницька Л. В. представила та провела обговорення результатів наукових досліджень на чисельних міжнародних і всеукраїнських науково-практичних конференціях України, Білорусі, країн Європейського Співтовариства, Сполучених Штатів Америки, де отримано позитивні відгуки та схвалення. Представлення, обговорення і схвалення основних положень дисертації на цих конференціях, а також публікація експериментальних досліджень у наукових фахових виданнях, дають підставу стверджувати про важливість виконаних Кладницькою Л. В. дисертаційних досліджень, результати яких достатньо апробовані та висвітлені у наукових виданнях і відомі науковій громадськості та фахівцям виробництва. Актуальність і важливість досліджень докторантки підтверджуються і позитивними відгуками провідних вчених у галузі патофізіології, фізіології, біохімії, морфології, рекомендаціями щодо використання отриманих результатів у практиці ветеринарної медицини і навчальному процесі.

**Відомості щодо біоетичної експертизи дисертаційних досліджень.** Дисертаційна робота Кладницької Л. В. виконана з урахуванням положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей», «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики та закону України про «Захист тварин



від жорстокого поводження». Це підтверджується Висновком комісії з біоетики факультету ветеринарної медицини, яка засвідчила, що експерименти проведені на клінічно здорових тваринах з дотриманням вимог щодо проведення дослідів на тваринах та принципів біоетики щодо захисту рослинного, тваринного світу та довкілля.

**Структура дисертаційної роботи, відповідність між змістом дисертації та авторефератом.** Дисертаційна робота написана і оформлена відповідно до чинних вимог "Положення..." ДАК МОН України. Матеріал дисертації викладено на 417 сторінках відповідно до поставленої мети і завдань. Структура роботи складається з анотації, переліку умовних позначень, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, результатів експериментальних досліджень, їхнього аналізу та узагальнення, висновків та пропозицій виробництву, списку використаних джерел і додатків. Дисертантом опрацьовано літературні джерела у кількості 487 найменувань, з яких 422 латиницею в ретроспективі останніх 5 років, а список оформлений згідно вимог. Робота ілюстрована 48 таблицями, 107 рисунками, що значно полегшує аналіз матеріалу.

Матеріали дисертації та автореферату викладені у логічній послідовності та написані лаконічно державною мовою. Ознайомлення з текстом автореферату дисертації дає підстави стверджувати, що за структурою і змістом він відповідає вимогам, що ставляться МОН України. У тексті автореферату відображено основні положення, зміст, результати і висновки здійсненого Кладницькою Л. В. дисертаційного дослідження. Зміст автореферату та основні положення дисертації є ідентичними.

У «Вступі» докторант розкриває сутність наукової задачі та її значення, а також зв'язок роботи з науковими програмами, мету, завдання, наукове і практичне значення одержаних результатів, їх апробацію. Мета і завдання досліджень сформовані вірно і на високому науковому рівні, вони побудовані з урахуванням вже встановлених фактів, що дозволило автору дисертації визначити саме ті питання, які залишились у літературі нез'ясованими.

Тема дисертаційної роботи достатньо аргументована детальним аналізом значної кількості літературних джерел, що викладено в розділі I "Огляд літератури" 13 підрозділами. У кожному підрозділі докторант послідовно з посиланням на доступну інформацію висвітлює оглядовий та критичний аналіз попередніх досліджень вітчизняних та іноземних вчених з питань, що розкривають морфологічні та функціональні властивості стовбурових клітин, методи їх отримання, впливу на організм реципієнта за пухлинного процесу.

Розділ закінчується «Висновком до розділу», який, безумовно, полегшує сприйняття матеріалу. Тут автор робить короткий аналіз існуючих в літературі даних по темі наукової роботи та окреслює актуальні питання,

які сьогодні залишаються поза увагою дослідників.

У розділі 2 «Матеріали і методи досліджень» (с. 107) матеріал систематизований, демонструє суть наукового пошуку щодо досягнення поставленої мети. У відповідності до вимог описані методики досліджень, приведена їх схема. Методологічно вірно визначено організацію і послідовність проведених досліджень. Схеми дослідів і методи досліджень адекватні меті та завданням роботи, що вказує на відповідний науково-методичний рівень дисертаційної роботи та пошукача.

Основну частину дисертаційної роботи представляє розділі 3 «Результати дослідження» (с.147), де викладено матеріали дослідження стосовно отримання стовбурових клітин культури жирової та нервової тканин, їх морфологічних особливостей, функціональних властивостей, та впливу на пухлинний процес в тварин-реципієнтів.

Дослідження проводились у три етапи. За кожним підрозділом автор обґрунтовує доцільність проведення досліджень, а при описі отриманих цифрових результатів, робить відповідні висновки, зазначає власні опубліковані праці.

Розділ 4 «Аналіз і узагальнення результатів досліджень» викладений на сторінках 304–320, в якому пошукач узагальнює одержані результати експериментальних досліджень і дає їх глибокий аналіз. Необхідно відмітити добру аргументацію автором результатів у критичному співставленні та обговоренні їх з даними інших дослідників і відзначити високий науковий рівень викладання та аналізу цих матеріалів.

Висновки дисертації та пропозиції виробництву зроблені з урахуванням критеріїв достовірності і представлені в дисертації на сторінках 330–335. Висновки всебічно обґрунтовані експериментально і достатньо повно висвітлюють отримані результати, чіткі і конкретні, що слід виділити окремо, враховуючи великий обсяг експериментальних даних. Важливою особливістю наукових розробок дисертаційної роботи є комплексне вивчення теоретичних питань у взаємозв'язку з потребами практики. На це вказують як основні положення, що науково обґрунтовані та підтверджені достовірними експериментальними даними, так і пропозиції виробництву.

Характеризуючи в цілому основний зміст дисертації, можна зробити висновок, що пошукач Кладницька Лариса Володимирівна одержала результати, які мають наукову та практичну цінність. Власний аналіз надає підстави для висновку, що поставлена мета і завдання в ході виконання досліджень були досягнуті, дисертація є завершеною кваліфікаційною роботою, цінною для теорії, виробництва і практичної ветеринарної медицини.

**Повнота викладу наукових положень, висновків і пропозицій, сформульованих у дисертації та в опублікованих працях.** Основні положення дисертації опубліковано в 53 наукових працях,

з яких 25 статей у наукових фахових виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз даних, 3 статті у наукових виданнях інших держав, стаття в іншому науковому виданні України, включеному до міжнародних наукометричних баз даних, 2 патенти України на корисну модель, методичні рекомендації та 21 теза наукових доповідей.

Високо оцінюючи дисертаційну роботу Кладницької Лариси Володимирівни слід відмітити окремі недоліки, висловити зауваження і побажання:

На думку опонента при висвітленні актуальності теми дисертаційної роботи потрібно було б більш детально обґрунтувати доцільність розробки нових способів отримання стовбурових клітин культури жирової та нервової тканини дослідних тварин;

1. У розділі 2 при описі методик окремі з них можна скоротити, а натомість вказати автора та рік їх розробки ;
2. У другому розділі при викладенні загальної схеми досліджень досить детально зазначено заплановані дослідження, що на нашу думку зайве і загромаджує схему.
3. У розділі 3 вважаю доречним деталізувати назви рисунків з уточненням доби дослідження стовбурових клітин (а саме, Рис. 3.1 - 3.7; Рис. 3.12 - 3.33; Рис. 3.35 – 3. 42).

Крім того, на Рис. 3.33 відсутні показники по осях ординат; - на Рис.3.31 (стор.209) у підпису до рисунку відсутня назва тварин, чий МСК досліджені; - на Рис. 3.18 (стор.184) – на трьох малюнках МСК кісткового мозку миші не вказано, чи вони зроблені на один той самий час культивування?

4. Варто відмітити, що в окремих підрозділах розділу 3 дисертаційної роботи є відсутні узагальнення, що утруднює сприйняття отриманих результатів.
5. Протягом всього тексту дисертації вживається словосполучення «... фетальної сироватки бичків». Але, насправді, це – фетальна, або ембріональна сироватка ВРХ. Оскільки в разі застосування сироватки бичків, вона має бути отримана з ембріонів бичків, а в каталогах фірм-постачальників вона значиться, як «ембріональна сироватка ВРХ», оскільки в процесі її виробництва не розділяють окремо отримання ембріонів бичків та теличок.
6. По всьому тексту дисертації в багатьох місцях відсутня конкретизація виду тварин, з яких досліджені стовбурові клітини (стор.3-5; стор.38; стор. 173; стор. 177; стор.184; стор. 186; стор. 190; стор.192; стор. 211; стор. 213; стор. 214; стор. 216; стор. 218; стор.219; стор. 336).



7. На стор. 4, абзац 3, строка 1 – відсутні одиниці площі клітин, також, як і одиниці, в яких виміряна життєздатність клітин на 12-му пасажі.
8. На стор. 36 у фразі відсутнє слово « для культивування **стовбурових** клітин...»; на стор. 188 та стор. 189 не вказано клітини мишей якого саме кісткового мозку отримали для культивування.
9. Хотілося б почути від дисертантки, чим відрізнялись клітини (МСК) цуценят, отримані з пупкового канатику у дослідженнях Малюка М.О. і МСК з підшкірної жирової собаки, досліджені Вами, описані у розділі 3.1.4.? До цього ж питання: чим відрізняються МСК з підшкірної жирової коня у Ваших дослідженнях і дослідженнях Малюка М.О.? Чи різняться тільки тим, що як джерело МСК взяті різні тканини, чи є ще відмінності (Розділ 3.1.6)?
10. У Розділі 4 (стор. 303) у другому абзаці останнього речення серед переліку назв дослідних тварин пропущені коти.
11. Зауваження щодо розділу Висновки.
  - На нашу думку деякі висновки досить громіздкі і їх можливо було скоротити, а саме : N 5, 6).
  - У висновках N 1,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15 відсутні посилання для стовбурових клітин якого виду тварин вони стосуються.

У роботі зустрічаються деякі стилістичні, технічні і граматичні помилки, можливо пов'язані з комп'ютерним набором. Зустрічаються русизми, відсутні або зайві розділові знаки й інші помилки, які легко можна було б виправити.

Крім цього, в процесі рецензування і аналізу матеріалів дисертації виникли окремі дискусійні питання та уточнення, зокрема:

1. Назвіть морфологічні особливості стовбурових клітин культури кісткового мозку і жирової тканини за ранніх і пізніх пасажів?
2. На що вказує показник ядерно-цитоплазматичного співвідношення та його зміна на різних пасажах культивування?
3. Опишіть відмінність запропонованого вами методу отримання стовбурових клітин культури жирової тканини та його переваги над існуючими.
4. Дискусійним є і питання вживаних деяких термінів, що є перекладом з інших мов, наприклад «більшого сальника» та «клітинності».

У цілому дисертаційна робота добре сформована і структурована згідно чинних вимог. Приведені побажання і дискусійні питання не є принциповими і зовсім не зменшують позитивної оцінки роботи

Кладницької Лариси Володимирівни, її наукової цінності, актуальності і практичної значимості. Враховуючи актуальність досліджень, об'єм проведеної роботи, в т. ч. експериментальної, мої побажання носять робочий технічний характер.

**Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам.** Дисертаційна робота Кладницької Лариси Володимирівни на тему: **«Морфофункціональні властивості стовбурових клітин та їх вплив на пухлинний процес»** є самостійною завершеною науково-дослідною працею. Запропоновані автором дисертації основні наукові положення та висновки достовірні, достатньо обґрунтовані і повністю відповідають завданням дослідження. Дисертаційна робота містить не захищені раніше наукові положення та нові науково-обґрунтовані результати. Наукова новизна і практична значущість роботи, що рецензувалась, свідчить про великий обсяг зусиль дисертанта, спрямованих на розробку та впровадження у практику ветеринарної медицини.

Враховуючи актуальність теми, її наукову новизну, обсяг досліджень та їх високий методичний рівень, теоретичну й практичну цінність, науково-кваліфікаційний рівень і глибокий всебічний аналіз одержаних результатів, їх апробацію та висвітлення результатів експериментальних досліджень у наукових працях, належне оформлення дисертації, зміст висновків і пропозицій, вважаємо, що робота Кладницької Лариси Володимирівни на тему: **«Морфофункціональні властивості стовбурових клітин та їх вплив на пухлинний процес»** повністю відповідає вимогам 10 «Порядку присудження наукових ступенів» Постанови Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р. (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015р. та № 1159 від 30.12.2015р.) щодо дисертацій, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня доктора ветеринарних наук зі спеціальності 16.00.02 «Патологія, онкологія і морфологія тварин».

#### **Офіційний опонент:**

Заступник директора з наукової роботи,  
завідувач відділу біотехнології і контролю  
вірусних препаратів Державного науково-контрольного  
інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів  
Держпродспоживслужби  
професор, доктор ветеринарних наук,



З. С. Клестова

21 жовтня 2020 р.