

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

на дисертаційну роботу *Цупикова Олега Михайловича* «Вплив трансплантації стовбурових клітин на процеси регенерації нервової тканини після ішемічного ушкодження головного мозку», представлену на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія.

Актуальність теми. Обрана Цупиковим О.М. тема дисертаційної роботи присвячена актуальній проблемі патофізіології – дослідженню механізмів репаративної регенерації нервової тканини під час ішемічного ушкодження головного мозку. Останніми десятиріччями досягнуто неабияких успіхів у розкритті гемодинамічних, клітинних та молекулярних механізмів церебральної ішемії. Арсенал фармакологічних засобів для лікування ішемічних ушкоджень мозку, зокрема, після інсульту, налічує багато препаратів із різними механізмами дії, але пошуки ефективних нейропротекторних засобів тривають до сих пір. Зараз активно досліджується можливість застосування клітинної терапії з використанням стовбурових клітин для лікування захворювань нервової системи. Проте впровадження в клінічну практику методик трансплантації стовбурових клітин має базуватися на глибокому розумінні механізмів їх функціонування та достатньому експериментальному матеріалі. Вивчення позначеного кола питань можливе в умовах експериментальної трансплантації із залученням адекватних моделей патології у лабораторних тварин.

З огляду на це дисертаційна робота Цупикова О. М., яка присвячена дослідженню впливу трансплантації стовбурових клітин на процеси регенерації нервової тканини після ішемічного ушкодження мозку, є, безумовно, актуальною. Вона продовжує низку плідних молекулярно-фізіологічних і цитологічних досліджень з вивчення наслідків аноксії та

гіпоксії для нервової системи, що виконуються в Інституті фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України і, зокрема, у відділі цитології.

Наукова новизна, теоретичне та практичне значення отриманих результатів дослідження. У дисертаційній роботі на створеній *in vitro* моделі перивентрикулярної лейкомаляції уперше показано, що мультипотентні мезенхімальні стромальні клітини в умовах їх безконтактного співкультивування зі зрізами головного мозку мають нейропротекторний вплив на нервову тканину, зменшуючи реактивний астро- та мікрогліоз та збільшуючи кількість Rip-імунопозитивних олігодендроцитів. Досліджено вплив трансформації нейральних прогеніторних клітин у напрямку надекспресії FGF-2 на поведінку цих клітин після їх трансплантації у соматосенсорну кору щурів з ішемічним ушкодженням мозку та можливість утворення ними локальних навколосудинних проліферативних кластерів із нейрогенним потенціалом. Уперше показано, що надекспресія FGF-2 у нейральних прогеніторних клітинах сприяє їх тісному контакту з судинною мережею та формуванню навколосудинних BrdU-позитивних спіралеподібних проліферативних кластерів та утворенню пулу незрілих DCX-позитивних нейронів у відповідь на ішемічне ушкодження мозку. Уперше показано, що нейральні прогеніторні клітини, які надекспресують EMMPRIN, мігрують у пошкоджену соматосенсорну кору далі порівняно із контрольними клітинами та утворюють популяцію нейральних прогеніторів у пошкодженій ділянці кори. Уперше показано, що аксони щура формують синаптичні контакти на GFP-позитивних трансплантованих нейронах, утворених з індукованих плюрипотентних стовбурових клітин людини, і більшість з цих контактів мають ультраструктурні характеристики збуджувальних глутаматергічних синапсів.

Отримані результати мають як фундаментальне, так і практичне значення, оскільки помітно розширюють існуючі уявлення про клітинні механізми нейропротекторної дії трансплантованих стовбурових клітин при ішемічних ушкодженнях головного мозку та особливості поведінки цих клітин

в організмі. Практичне значення одержаних результатів полягає в знаходженні нових підходів для лікування ішемічних уражень головного мозку та обґрунтуванні застосування методів клітинної терапії із використанням стовбурових клітин при цій патології.

Ступінь обґрунтованості і достовірності наукових положень і висновків, що сформульовані в дисертації. Результати дисертаційної роботи отримані із використанням сучасних методів патологічної фізіології. Для забезпечення достовірності основних наукових положень і висновків, сформульованих у дисертації, автором правильно обрані методологія, схеми та методи проведення експериментальних досліджень. Вони відповідають обраній темі й мають достатній обсяг. Усі дослідження супроводжувалися адекватним контролем. Висновки роботи сформульовані чітко і ясно, вони випливають з результатів власних досліджень. Робота відзначається ретельністю виконання, методично правильним рішенням проблеми. Отримані результати досліджень опрацьовані за допомогою адекватної статистичної методики, що надає їм достовірного характеру. Таким чином, результати й висновки, які викладені в дисертаційній роботі, є обґрунтованими і логічними.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Роботу виконано у відділі цитології Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України в рамках наукових проєктів: «Дослідження регенеративного потенціалу мезенхімальних стовбурових клітин при перинатальній патології ЦНС», «Вивчення генетично-детермінованих молекулярних механізмів міжклітинної та внутрішньоклітинної сигналізації в нормі та при патологіях», «Клітинні та молекулярні механізми нейродегенерації та шляхи її корекції», «Вплив трансплантації стовбурових клітин на процеси регенерації нервової тканини при перинатальній патології ЦНС».

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота Цупикова О.М.

оформлена у повній відповідності до основних вимог ДАК МОН України. Дисертаційну роботу структуровано за класичною схемою, яка відповідає наявності вступу, дев'яти розділів, висновків, бібліографічного списку, який містить 357 джерел. Загальний обсяг дисертації становить 339 стор. Основний зміст викладено на 266 сторінках. Робота містить 3 таблиці та 107 рисунків.

У вступній частині дисертації обґрунтовано актуальність теми, мету і задачі дослідження, визначено наукову новизну, практичне значення отриманих результатів та особистий внесок здобувача в представлені розробки. Ці питання висвітлені стисло і чітко, що полегшує розуміння задуму роботи, шляхів розв'язання проблеми і основні результати.

У першому розділі наведено критичний аналіз сучасних наукових літературних джерел щодо стану вивчення нейральних стовбурових клітин дорослого організму та можливості їх застосування при ішемічному ушкодженні головного мозку та перинатальній патології ЦНС. Матеріал викладено досить повно, послідовно і критично. Підсумовуючи огляд літератури, автор виділяє основні проблеми, від вирішення яких залежить прогрес в цій галузі і які склали основний зміст проведеного дослідження.

У другому розділі «Матеріали та методи» детально описані експериментальні *in vivo* та *in vitro* моделі ішемічного ушкодження головного мозку, методи виділення та культивування стовбурових клітин різного генезу, методи конструювання лентівірусних векторів та трансдукції нейральних прогеніторних клітин, способи трансплантації стовбурових клітин, методи імуноцито- та гістохімії на світловому та електронно-мікроскопічному рівнях, методи дослідження поведінкових реакцій експериментальних тварин.

Результати власних експериментальних досліджень і статистичний аналіз отриманих даних викладено у третьому-восьмому розділах дисертації.

Дев'ятий розділ дисертаційної роботи «Обговорення результатів дослідження» присвячено аналізу та узагальненню отриманих результатів. Дисертант підбиває підсумки проведених досліджень і обґрунтовує висновки роботи, розставляє логічні акценти на найбільш вагомих аспектах проблем, що

вивчались в роботі.

Отримані під час роботи результати дисертант згрупував у 9 висновків, які підтверджено фактичними даними, що містяться в дисертації. Крім цього кожний розділ дисертації також уміщує доречні узагальнення.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях та авторефераті. Основні результати, наукові положення та висновки викладені в 35 опублікованих працях, із них 21 стаття у фахових наукових виданнях, 14 тез доповідей у матеріалах конференцій і симпозіумів. Опубліковані праці свідчать про повноту викладення наукових положень та висновків, сформульованих у дисертації. Автореферат повністю відображає основний зміст дисертації.

Дискусійні положення та зауваження по дисертації. Позитивно оцінюючи роботу Цупикова О.М., слід висловити деякі дискусійні питання та зауваження:

1. Для наочності та зручності сприйняття матеріалу цифрові дані краще було б представити у вигляді таблиць.

2. Чи існують ризики неконтрольованої проліферації трансплантованих нейральних прогеніторних клітин або мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин в організмі реципієнта після трансплантації?

3. Який шлях трансплантації клітин при пошкодженнях головного мозку є оптимальним і чому?

4. Чи був підтверджений *in vitro* нейральний фенотип культур клітин, отриманих з іПСК людини?

Висловлені питання і зауваження не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи, вони мають лише дискусійний або уточнюючий характер.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Олега Михайловича Цупикова "Вплив трансплантації стовбурових клітин на процеси регенерації нервової тканини після ішемічного ушкодження головного мозку" за своєю актуальністю, методичним рівнем, обсягом проведених досліджень, відповідністю висновків отриманим експериментальним даним, великою науково-теоретичною і практичною значимістю основних положень для сучасної патофізіології, повністю відповідає всім вимогам п. 10 «Про затвердження Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 року №567, які висуваються до докторських дисертацій, і її автор заслуговує на присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія.

Офіційний опонент:

завідувач відділу нейрохімії

Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна,

доктор біологічних наук, професор



Т. О. Борисова

Підпис *Т. О. Борисова*
ЗАСВІДЧУЮ
Зав. канцелярією
Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна
національної академії наук України
" " 20 р.

