

## 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.

### 1. Актуальність теми дисертації.

До найпоширеніших хвороб в Україні та світі належать неврологічні захворювання, розповсюдженість яких за останні роки значно збільшилася. Перше місце серед неврологічних захворювань посідають цереброваскулярні хвороби, серед яких найбільш тяжким вважається мозковий інсульт. За даними ВООЗ, інсульти та їх наслідки посідають одне з провідних місць в світі серед причин інвалідності та смертності.

Проблема цереброваскулярних захворювань актуальна не лише для дорослого населення, але й для новонароджених. Перинатальна патологія ЦНС є однією з найбільш актуальних медико-соціальних проблем сучасної неврології і становить 49,8 % всіх неврологічних захворювань у дітей. За даними ВООЗ у світі щорічно народжується 4-5 % дітей з вродженими вадами розвитку, серед яких 25-30 % - із вадами розвитку ЦНС.

Досі ведеться пошук нейропротекторних засобів, здатних впливати на механізми ішемічно-реперфузійних ушкоджень мозку. Припускають, що наслідки ішемічного ушкодження нервової тканини можуть бути компенсовані за рахунок активації власних репаративних механізмів або корекції за допомогою різних терапевтичних методів.

Останнім часом активно вивчаються можливості застосування клітинної терапії з використанням стовбурових клітин для лікування ішемічних і дегенеративних захворювань нервової системи.

Саме тому тема дисертаційної роботи О.М. Цупикова є безумовно актуальною для патологічної фізіології. Дисертаційна робота присвячена вивченню впливу трансплантації стовбурових клітин різного генезу на

процеси регенерації нервової тканини головного мозку та поведінкові феномени на різних моделях ішемічного ушкодження мозку.

2. Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами.

Робота виконана в рамках наукових програм відділу цитології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. Ця робота є фрагментом планової науково-дослідної роботи Інституту, яка спрямована на дослідження клітинних та молекулярних механізмів нейродегенерації та шляхів її корекції.

3. Структура та обсяг дисертації.

Дисертація має традиційну структуру і складається із вступу, огляду літератури, методичного розділу та 6 розділів з викладенням результатів досліджень та їх обговоренням, 9 висновків і списку використаних джерел наукової літератури. Останній налічує 357 робіт, переважно закордонних авторів. Дисертаційна робота добре ілюстрована і документована: робота має 107 рисунків і 3 таблиці.

4. Характеристика змісту і новизни дисертаційної роботи

У першому розділі дисертаційної роботи наведено критичний аналіз сучасних наукових літературних джерел щодо стану вивчення нейральних стовбурових клітин дорослого організму та можливості їх застосування за умов ішемічного ушкодження головного мозку та перинатальної патології ЦНС.

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

У третьому-восьмому розділах наведено результати експериментальних досліджень і статистичний аналіз отриманих даних.

Уперше на створеній *in vitro* моделі перивентрикулярної лейкомаляції

показано, що трансплантація мезенхімальних стромальних клітин гальмує розвиток реактивного гліозу та збільшує кількість Rip-позитивних олігодендроцитів шляхом безконтактної взаємодії зі зрізаними головним мозку.

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 даблкортин-позитивних нейронів у відповідь на ішемічне ушкодження мозку.

Уперше показано, що нейральні прогеніторні клітини (НПК), які надекспресують EMMPRIN, мігрують у пошкоджену соматосенсорну кору далі порівняно із контрольними НПК та утворюють популяцію нейральних прогеніторів у пошкодженій ділянці кори.

З використанням імуно-електронно-мікроскопічного аналізу вперше показано, що GFP-негативні аксони реципієнта формують синаптичні контакти на GFP-позитивних трансплантованих нейронах, утворених з індукованих плюрипотентних стовбурових клітин людини, і більшість із цих контактів має ультраструктурні характеристики збуджувальних глутаматергічних синапсів.

Таким чином, дисертант успішно вирішив завдання роботи і отримав нові наукові результати. У дев'ятому розділі «Обговорення результатів» здійснено аналіз і узагальнення отриманих результатів дослідження, на основі яких зроблено 9 висновків.

##### 5. Теоретичне та практичне значення результатів дослідження.

Результати дослідження О.М. Цупикова мають передусім фундаментальне 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 використання стовбурових клітин за

умов цієї патології.

Розроблену у дисертаційній роботі нову експериментальну *in vitro* модель перивентрикулярної лейкомаляції, яка є однією з причин розвитку дитячого церебрального паралічу, можна використовувати під час дослідження патогенетичних механізмів розвитку перивентрикулярної лейкомаляції, а також шляхів нейропротекції головного мозку при цій патології, зокрема, перспективних фармакологічних агентів та трансплантації стовбурових клітин.

Результати дисертаційної роботи впроваджені в матеріали науково-методичних рекомендацій кафедри гістології та ембріології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця.

6. Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

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 та мають достатній об'єм. Всі дослідження супроводжувалися адекватним контролем.

9 висновків дисертаційної 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.

7. Дискусійні питання та зауваження.

Дисертаційна робота Цупикова О. М. є серйозним фундаментальним дослідженням, що вирішує комплекс важливих питань для теорії і практики медицини, насамперед для патофізіології та неврології.

Разом з тим в процесі ознайомлення з роботою виникли деякі зауваження та запитання, а саме:

1. Частина деталей морфометричних досліджень наведена не в розділі «Матеріали і методи дослідження», а в описанні результатів.

2. Чи аналізували в проведених експериментах реакції відторгнення трансплантованих клітин при алогенній та ксеногенній трансплантації?
3. У дисертації виявлені деякі терміни, що не відповідають міжнародній гістологічній номенклатурі, русизми та фразеологічні неточності.

Відзначені зауваження не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи, мають лише дискусійний, уточнюючий або рекомендаційний характер.

#### 8. Загальний висновок.

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, науково-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 із змінами, внесеними згідно з Постановою КМ № 656 від 19.08.2015, № 656 від 19.08.2015, № 1159 від 30.12.2015, № 567 від 27.07.2016, які висуваються до докторських дисертацій, і її автор заслуговує на присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія.

Завідувач кафедри гістології та ембріології  
 Національного медичного  
 університету імені О.О.Богомольця,  
 член-кореспондент НАМН України,  
 професор, д.мед.н.



Ю.Б. Чайковський