

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора медичних наук, професора, Заслуженого працівника освіти України **Регеда М.С.** на дисертаційну роботу Первак Михайла Павловича на тему **«Патофізіологічні механізми епілептичного синдрому за умов транскраніального подразнення постійним струмом (експериментальне дослідження)»**, поданої до офіційного захисту в спеціалізовану вчену раду Д 55.051.05 при Сумському державному університеті МОН України на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія.

Актуальність обраної теми дисертації.

Епілепсія є тяжким поліморфним ураженням головного мозку, яке призводить до втрати працездатності, фізичним та психічним розладам, а також до соціальної дезадаптації та інвалідизації пацієнтів. На сьогодні, незважаючи на значні досягнення фармакологічного лікування проявів захворювання, значне число пацієнтів відрізняється резистентністю до антиепілептичних препаратів, в тому числі препаратів, які увійшли в епілептологічну практику останнім часом. Таким чином, проблема лікування пацієнтів хворих на епілепсію є актуальною і потребує першочергової уваги, так як прогресивні неконтрольовані форми захворювання є вироком для хворої людини.

Одним із альтернативних підходів щодо лікування резистентних форм епілепсії є застосування методів активації утворень мозку, що здійснюється за допомогою прецизійних впливів імпульсним, а також постійним електричним струмом. На тлі подібних впливів відбувається відновлення чутливості мозку до дії антиепілептичних препаратів, а також спостерігають безпосередні протисудомні впливи подібних подразнень. Однак механізми реалізації стимуляційних впливів залишаються невивченими.

Тому обраний дисертантом підхід вивчення ефективності впливу електродами постійного струму на епілептиформні прояви виявляється цілком актуальним як з практичного значення роботи, так і з науково-теоретичних позицій.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.

Дисертаційна робота Первак М.П. є частиною науково-дослідної роботи Одеського національного медичного університету (ОНМедУ) МОЗ України на тему: «Епігенетичні механізми реалізації дії фізичних факторів на структури

головного мозку та гомеостаз» (№ державної реєстрації 0116u008928). Здобувач був співвиконавцем зазначеної НДР.

Наукова новизна досліджень та отриманих результатів.

Автором вперше встановлено, що під впливом неінвазивного – транскраніального подразнення постійним струмом (ТППС) мозочка щурів з модельованим повторними введеннями пентиленететразолу (ПТЗ) кіндлінгом щурів спостерігається попередження генералізованих клоніко-тонічних судомних нападів, викликаних тестуючим застосуванням ПТЗ (30,0 мг/ кг, в/очер). Визначено центральний механізм реалізації протисудомного впливу, про який свідчить скорочення іктальної електрографічної активності, показано достовірно менш виразну протисудомну дію ТППС фронтальної кори, а також меншу ефективність ТППС у щурів з гострими ПТЗ індукованими судомами. На моделі максимальних електрошокових судом вперше встановлено динаміку виникнення протисудомних впливів подразнення мозочка електродами різної полярності.

Принципово важливими є отримані нові результати щодо посилення протисудомного впливу ТППС мозочка застосуванням акситинібу – інгібітора тирозин-кінази типу В, а також усунення ефекту ТППС блокуванням рецепторів, які активує пероксисомний проліфератор (PPAR γ). Крім того, автором вперше встановлено можливість зменшення ефектів полегшення судомної активності під впливом наночастинок срібла шляхом застосування ТППС мозочка.

Вперше встановлено відновлення кіндлінг-викликаних порушень циклу неспання – снання під впливом ТППС структур мозку. Зокрема, визначено збільшення тривалості парадоксального сну, який відіграє важливу роль в обмеженні та пригніченні епілептичної активності. Подібний результат збігається з визначеним автором зростанням спектральної потужності коливань високочастотного діапазону електрокортикограми.

На підтвердження новизни результатів роботи автором отримано патент України № 133587 «Спосіб усунення епілептичної активності», який зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі від 10.04.2019.

Теоретичне значення отриманих результатів.

Автором визначено патогенез припинення епілептичної активності, які реалізовані за рахунок активації структур мозочка постійним струмом. Так, посилення протисудомних впливів ТППС акситинібом свідчать щодо пригнічення активності тирозин-кінази В, а його усунення в результаті блокування рецепторів, які активує пероксисомний проліфератор (PPAR γ) – навпаки, активації цих рецепторів як механізмів протисудомного ефекту ТППС

мозочка на моделі кіндлінгового епілептогенезу. Крім того, усунення проепілептогенного впливу наночастинок срібла акситинібом та посилення його впливу ТППС мозочка, свідчать щодо активації тирозин-кінази В як основного механізму посилення кіндлінг-індукованого епілептогенезу наночастинками срібла. Також відновлення показників циклу неспання – спання у щурів із ПТЗ –індукованим кіндлінгом під впливом ТППС мозочка свідчать щодо його ролі як структури, залученої до контролю циркадіанних ритмів, а також підтверджує роль парадоксального сну як своєрідного протисудомного механізму мозку.

Практичне значення отриманих результатів.

Отримані автором результати дозволяють розглядати метод неінвазивного подразнення структур мозку за допомогою електродів постійного струму як технології зниження судомної готовності структур мозку. Крім того, визначене посилення протисудомних впливів ТППС за рахунок комбінованого застосування ТППС з акситинібом – інгібітором тирозин-кінази типу В є перспективним результатом щодо розробки комбінованих фармако-фізіотерапевтичних методів лікування хворих на епілепсію.

Результати досліджень впроваджено в науково-педагогічний процес на кафедрі загальної та клінічної патофізіології ім. В.В. Підвисоцького та кафедрі біофізики, інформатики та медичної апаратури Одеського національного медичного університету, кафедрі патологічної фізіології Національного фармацевтичного університету, кафедрі патологічної фізіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, кафедрі медичної фізики, діагностики та лікувального обладнання Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень і висновків, сформульованих у дисертації, їх достовірність.

Проведені дослідження здійснено у відповідності до мети та окремих завдань дослідження. Дисертант прискіпливо запланував та провів дослідження у відповідних серіях експериментальних спостережень. Загальне число експериментальних тварин, яке склало 239 щурів лінії Вістар, забезпечило вирішення поставлених завдань. При проведенні досліджень автор сумлінно витримує умови спостереження як в групах спостереження, так і в групах контролю, переконливо, із зазначенням статистично значимих відмінностей дотримується послідовного описування отриманих результатів.

Застосовані автором технології виконання експериментальних спостережень є сучасними, адекватними до поставленої мети та завдань роботи,

наведено необхідні деталі, які дозволяють читачеві за його бажанням відтворити експериментальну процедуру – як моделювання епілептичного синдрому, так і застосування процедур подразнення структур мозку електричним струмом.

Отримані в дослідженні результати оброблено за допомогою адекватних статистичних процедур. Статистично достовірні результати слугували в якості обґрунтування відповідних висновків роботи, які свідчать про вирішення поставлених в дослідженні завдань.

Таким чином, достовірність результатів забезпечена дизайном експериментальних спостережень та технологічним базисом дослідження, дотриманням процедур аналітичної статистики при порівнянні результатів експериментальних спостережень з контролем.

Основний зміст дисертації та його структура.

Дисертаційна робота Первак М.П. викладена українською мовою і оформлена відповідно чинних вимог МОН України до кандидатських дисертацій.

У «Вступі» автором визначено актуальність дисертаційного дослідження, важливість вивчення патогенетичних механізмів епілептичного синдрому за умови активації структур мозку електродами постійного струму. Автор підкреслює значення штучної активації структур мозку як альтернативний підхід до контролю патологічної збудливості мозку та проявів епілепсії, можливість ефективного застосування подібних впливів у пацієнтів з резистентними до фармакологічного лікування формами захворювання. Також автор вказує на необхідність визначення патогенетичних особливостей припинення епілептиформних проявів шляхом застосування блокаторів рецепторних систем, зокрема рецепторів, які активує пероксисомний проліфератор (PPAR γ), а також блокаторів активності тирозин-кінази типу B, роль яких у формуванні захворювань головного мозку встановлена останнім часом.

Автором чітко і однозначно сформульовано мету дисертаційної роботи, яка полягає у вивченні патогенетичних механізмів епілептичного синдрому, які здійснюються за умови впливу постійним струмом на структури фронтальних відділів кори мозку та кори мозочку. Вказана мета передбачає вирішення низки завдань, які також чітко виписані автором.

У «Вступі» автором наведено наукову новизну та практичне значення отриманих результатів, особистий внесок дисертанта у виконання роботи, узагальнення отриманих результатів та формулювання висновків.

В першому розділі роботи – огляді літератури, який займає 22 сторінки комп'ютерного тексту та має три підрозділи автор послідовно висвітлює механізми впливу електродів постійного струму на нейрональні структури головного мозку. Причому, автор вказує як на нейроелектрофізіологічні аспекти, так і метаболічні та функціональні впливи. Тобто проведений системний аналіз свідчить про великий потенціал застосування подібних впливів, який на сьогодні має значне поширення та відрізняється суттєвою практичною перспективою.

Також автором вдало висвітлюються певні протиріччя результатів досліджень патогенезу судомних проявів за умови застосування ТППС структур мозку, недостатнє їх вивчення за умови ТППС утворень мозочка.

Проведений критичний аналіз даних літератури дозволяє автору дійти висновку щодо перспективності вивчення механізмів розвитку та припинення проявів епілептичного синдрому на тлі застосування методу ТППС структур мозку, а саме – структур мозочка, а також фронтальних відділів кори мозку.

В другому розділі дисертаційної роботи «Матеріали та методи досліджень», який викладено на 10 сторінках комп'ютерного тексту, в межах поставлених завдань деталізованої групи, а також дизайну застосування препаратів для нейрофармакологічного аналізу та впливу постійним струмом. Розділ містить доречну ілюстрацію – скан електроенцефалограми, зареєстрованої на комп'ютерному електроенцефалографі.

В цьому розділі автором наведено дев'ять підрозділів, які розкривають необхідні особливості відтворення моделей епілептичного синдрому, хірургічних втручань, а також проведення процедур реєстрації судомних проявів, впливів постійним та імпульсним електричним струмом, застосування фармакологічних агентів, а також гістологічного контролю положення електродів. Передбачено застосування статистичних методів оцінки отриманих результатів із визначенням адекватних критеріїв для обробки відповідних даних – інтервальних та дискретних.

Третій розділ роботи викладений на 19 сторінках комп'ютерного тексту, містить два основних підрозділи, ілюстрований п'ятьма таблицями та п'ятьма рисунками. В цьому розділі автор викладає результати досліджень впливу транскраніального подразнення постійним струмом (ТППС) структур мозку – кори мозочка та фронтальної кори на прояви хронічного епілептичного синдрому та гостру судомну активність, які викликали застосуванням пентиленететразолу (ПТЗ). Слід зазначити, що модель кіндлінгу, який викликано застосуванням ПТЗ є поширеною в експериментальній епілептології. Достатньо глибоко вивчено нейрофізіологічні, метаболічні, а також генетичні аспекти формування кіндлінгу, встановлена відповідність клінічних проявів

епілепсії поведінково-локомоторним еквівалентам у кіндлінгових тварин. Тому аналіз отриманих на даній моделі результатів дозволяє автору детально визначитися з патогенетичними особливостями формування хронічної епілептизації головного мозку.

Автором встановлено принциповий факт розвитку виразного протисудомного впливу ТППС мозочка на прояви кіндлінг-індукованих судом, які реєструвались у вигляді подовження латентного періоду судом, попередження генералізованих клоніко-тонічних судомних нападів, а також скорочення тривалості іктальних потенціалів. Також виявлено значно меншу виразність протисудомних ефектів ТППС на моделі гострих ПТЗ-викликаних судом. На моделі максимальних електрошокових судом (МЕС) також з'ясовано протисудомну ефективність ТППС мозочка. Причому, автор встановив, що вплив анодом супроводжується протисудомним ефектом який триває на протязі двох годин після припинення подразнення, в той час як вплив катодом супроводжується протисудомною дією з початку другої і триває до десятої години післястимуляційного періоду. Цей результат є новим і важливим як для практичного застосування ТППС, так і розуміння механізмів активації утворень мозочка, які супроводжуються змінами збудливості кори головного мозку.

Четвертий розділ роботи присвячений з'ясуванню механізмів реалізації протисудомних впливів ТППС мозочка на епілептиформні прояви. Розділ має чотири основні підрозділи і займає 34 сторінки комп'ютерного тексту, ілюстрований дев'ятьма таблицями та десятьма рисунками. В першому підрозділі дисертант наводить результати сумісного застосування акситинібу та подразнень мозочка на кіндлінг-провоковані судоми. Причому в цьому підрозділі використовували вплив катодом на структури мозочка. Автор встановив, що ТППС мозочка стає більш ефективним у відношенні до попередження кіндлінгових судом на тлі застосування блокатора активності тирозин-кінази типу В, яким є акситиніб. Подібний ефект потенціювання протисудомної дії також доведений за умови впливу імпульсним електричним подразненням окремої дольки палеоцеребелярної кори, а саме – скату (долька VI), що вказує на її причетність до виникнення відповідних взаємопосилюючих впливів ТППС та акситинібу.

Другий підрозділ присвячений вивченню застосування наночастинок срібла на моделях хронічних та гострих ПТЗ-індукованих судом, а також особливостям ефектів наночастинок на тлі ТППС мозочка. Доцільність застосування наночастинок срібла пояснюється їх здатністю активувати кіназні ензими, в тому числі тирозин-кіназу типу В, що є логічним продовженням досліджень першого підрозділу. Автор доводить факт посилення

епілептиформних проявів у кіндлінгових щурів за умови застосування наночастинок, а також здатність ТППС мозочка за допомогою як анода, так і катода зменшувати виразність подібного впливу.

В третьому підрозділі викладено результати вивчення ефектів ТППС мозочка за умови застосування кетаміну (75,0 мг/кг), який є антагоністом NMDA-рецепторів. Автор визначив, що застосування кетаміну дещо посилює судому на ранній стадії кіндлінгу, а при сумісному застосуванні кетаміну та ТППС – як анодом, так і катодом спостерігається попередження генералізованих клоніко-тонічних судом на пізній стадії кіндлінгу при відсутності відмінностей від окремого застосування кетаміну.

В четвертому підрозділі автор наводить результати ТППС мозочка на тлі блокування γ -рецепторів, які активує пероксисомний проліфератор (PPAR γ) за допомогою специфічного блокатора цих рецепторів дигліцидилового ефіру бісфенолу А - 2,2-[(1-метилетілден) біс (4,1-феніленеоксиметілен)] біс-оксірану (BADGE, 100,0 мг/кг, в/очер). Автором встановлено принципово важливий факт зменшення виразності протисудомного впливу ТППС на тлі блокування PPAR γ . Подібний ефект є важливим, так як свідчить щодо чіткого механізму реалізації протисудомного впливу, а також щодо перспективи посилення протисудомних впливів мозочка за рахунок комплексного застосування ТППС та агоністів PPAR γ , які на сьогодні представлені тіоглітазонами та використовуються в медичній практиці.

П'ятий розділ дослідження присвячено вивченню поведінкових розладів, зокрема показників циклу неспання – сну у щурів за умови відтворення кіндлінгу, а також особливостей потужності спектральної щільності електрокортикограми, яку реєстрували у фронтальних відділах кори мозку. Розділ викладений на 23 сторінках комп'ютерного тексту і ілюстровано 10 рисунками. Автором доведено, що ТППС мозочка кіндлінгових щурів супроводжується зменшенням потужності коливань дельта-діапазону при застосуванні катоду та альфа-діапазону, а також зростання потужності коливань бета- та гама-діапазону у фронтальній корі при застосуванні аноду у фронтальних відділах кори головного мозку. Відповідні зміни спостерігались з боку показників циклу неспання–сну – ТППС анодом зменшувало дефрагментацію парадоксального сну та відновлювало його тривалість. Вказані особливості дозволили автору поглиблено проаналізувати можливі механізми реалізації протисудомних ефектів ТППС мозочка, пов'язані із контролем реакцій десинхронізації електрокортикограми.

Аналіз та узагальнення результатів дослідження автором викладено у логічній послідовності, відчувається узгодженість та успадкування основних

наукових тез в розділах дослідження. Також слід зазначити, що автор виявляє достатню наукову ерудицію, наводить літературні дані переважно останнього часу, які однозначно відносяться до предмету аналізу.

Вісім висновків роботи чітко сформульовані, обґрунтовані результатами роботи та не викликають сумніву у читача. Висновки свідчать про розв'язання поставлених в дослідженні завдань та досягненні мети роботи.

Список літератури оформлений відповідно до вимог Національного стандарту України ДСТУ 8302:2015 «Інформація та документація. Бібліографічне посилання. Загальні положення та правила складання». Переважна більшість літературних джерел вийшла з друку останнім часом.

Таким чином, загальний аналіз побудови дисертації свідчить, що наукова робота М.П.Первак відповідає методологічним вимогам, обґрунтована достатнім статистично достовірним матеріалом, при їх формулюванні приймалися до уваги лише статистично достовірні результати дослідження.

Повнота викладення наукових положень дисертації в опублікованих працях.

За темою дисертації опубліковано 20 наукових робіт. Слід відзначити те, що у співавторстві опубліковано одну монографію, яка індексується наукометричною базою даних SCOPUS, 6 статей, в тому числі 2 статті, які індексуються базою даних SCOPUS, 3 статті у наукових вітчизняних фахових виданнях, які рекомендовані ДАК МОН України, та одна стаття у закордонному наукометричному періодичному виданні. Чотири статті – одноосібні праці дисертанта. За темою дисертаційних досліджень надруковані 11 тез доповідей на наукових форумах різного рівня. Також отримано патент України на корисну модель.

Результати та основні наукові положення дисертації повністю висвітлені у наукових працях.

Ідентичність змісту автореферату й основних положень дисертації.

Дисертаційна робота та автореферат витримано у науковому стилі, ілюстративний матеріал вдало доповнює текст за відсутності дублювання. Оформлення автореферату та дисертації відповідає вимогам наказу МОН України №40 від 12.01.17 р. Автореферат відповідає тексту дисертації.

Зауваження, що стосуються оформлення і змісту дисертації та автореферату.

Разом із загальною позитивною оцінкою роботи слід відмітити деякі зауваження та пропозиції:

1. На мою думку таблиці за №№ 4.1 – 4.5 можуть бути представлені у вигляді двох окремих таблиць – динаміки латентного періоду судом та тяжкості судом, так як в згаданих таблицях на першому місці є тяжкість судом і не зовсім зрозуміло, який застосовувався статистичний критерій оцінки відмінностей до зазначених проявів епілептичного синдрому.

2. В п'ятому розділі ілюстративний матеріал є дещо одноманітним – наведені рисунки, більшість з яких у відносних одиницях виміру. Бажано було б навести результати також у вигляді таблиць.

3. В тексті роботи є окремі граматичні та стилістичні помилки.

Проте, вказані зауваження та пропозиції не мають принципового характеру, не зменшують науково-практичного значення роботи та не впливають на позитивну оцінку дисертаційної роботи Первака М.П.

Крім того, хотілось би почути думку дисертанта з приводу наступних питань.

1) Автор теоретично обґрунтовує застосування наночастинок срібла їх здатністю неспецифічним чином посилювати активність кіназ. Чи є у Вас власні дані щодо доцільності подібного вибору, як інструменту вивчення механізмів впливу ТППС за рахунок модуляції активності тирозин кінази ?

2) Чому, на відміну від досліджень сумісних ефектів акситинібу та ТППС, при вивченні сумісних впливів наночастинок срібла та ТППС Вами застосовувалось вплив як катодом, так і анодом ?

3) Чим виправдане дослідження впливів кетаміну та ТППС мозочка на ранній та пізній стадіях кіндлінгу, в той час як в інших підрозділах вивчення сумісного застосування ТППС та акситинібу, наночастинок срібла та блокатора PPAR γ не йшлося про різні стадії кіндлінгу ?

Відповідність дисертації обраній спеціальності, профілю спеціалізованої вченої ради та вимогам МОН України.

Дисертація Первак Михайла Павловича «Патофізіологічні механізми епілептичного синдрому за умов транскраніального подразнення постійним струмом (експериментальне дослідження)».— , яка подана на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук, є закінченою, самостійно виконаною працею, у якій вирішено актуальне наукове завдання, що полягає у визначенні патогенетичних особливостей розвитку епілептичного синдрому за умов ТППС структур мозку.

Тема дисертації є актуальною, а науковий напрям досліджень новим та перспективним. Автор застосував сучасні методи наукового дослідження, які є

адекватними та достатніми для вирішення поставлених в роботі завдань. Проведено належний за обсягом об'єм експериментальних досліджень, які дозволили отримати нові важливі, науково обґрунтовані результати.

Таким чином, проведений аналіз роботи дозволяє дійти висновку, що дисертаційне дослідження **«Патофізіологічні механізми епілептичного синдрому за умов транскраніального подразнення постійним струмом»** – відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України за № 567 від 24.07.2013 р. (зі змінами) до кандидатських дисертацій, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія.

Офіційний опонент

завідувач кафедри патологічної фізіології
Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького
МОЗ України

доктор медичних наук, професор
Заслужений працівник освіти України
лауреат премії С.Д. Стражеска,
лауреат премії Ф.Г. Яновського НАН України

Регеда М.С.

