

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Первака Михайла Павловича «Патофізіологічні механізми епілептичного синдрому за умови транскраніального подразнення постійним струмом (експериментальне дослідження)», подану до офіційного захисту на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія – до спеціалізованої вченої ради Д 55.051.05 при Сумському державному університеті МОН України

Актуальність обраної теми дисертації. Праця М.П. Первака присвячена актуальній проблемі патофізіології та медицини загалом – патогенезу епілепсії (епілептогенезу). Метою роботи стало з'ясування патофізіологічних механізмів епілептичного синдрому за умов транскраніального подразнення постійним струмом (ТППС) структур мозочка.

Епілепсія є одним із найбільш тяжких захворювань головного мозку, і патогенез захворювання зачіпає основні складові діяльності нервової системи – синтез та метаболізм макромолекулярних структур, обмін нейромедіаторів та біоелектрогенез. Зважаючи на дивергентний характер механізмів залучення до розгортання епілептогенезу функцій нейрональних утворень, лікування епілепсії відрізняється високою резистентністю. Так, незважаючи на новітній, значно розширений арсенал антиепілептичних препаратів, близько третини хворих залишаються неконтрольованими фармакологічними препаратами. Більше 20 мільйонів осіб у світі з близько 70 мільйонів людей, що страждають на епілепсію, потребують інших, нефармакологічних, методів лікування. В Україні ця категорія хворих сягає близько 0,75- 1,35 на 1000 населення.

Одним із таких методів лікування, який отримав значне поширення останнім часом, є вплив електричним струмом на структури головного мозку. Подібний підхід виправдав себе при застосуванні імпульсного електричного струму, а останнім часом – впливу електродами постійного струму у пацієнтів з різними захворюваннями головного мозку, в тому числі з епілепсією. Однак, залишаються нез'ясованими механізми розвитку та припинення епілептичної активності, які б дозволили визначити оптимальні умови виникнення протисудомних ефектів.

Визначення структур мозочка в якості мішені для здійснення ТППС є виправданим з огляду на результати, отримані за експериментальних та клінічних умов подразнення мозочка при моделюванні та захворюванні на епілепсію відповідно. Причому, необхідно зазначити, що на сьогодні не існує єдиного погляду на оптимальний режим та параметри подразнення, які

дозволяють однозначно припинити епілептиформні прояви, що підтверджує актуальність застосування впливу постійним струмом з метою отримання надійного ефекту попередження та пригнічення епілептичної активності.

Тому обрана автором тема є актуальною з науково-теоретичних та практичних позицій. Також вдалим, на наш погляд, є обрання структур мозочка в якості утворення-мішені електричних подразнень, так як мозочок здійснює гальмівні впливи на кору головного мозку та є ключовим елементом антиепілептичної системи мозку.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота Первака М.П. виконана згідно з планом науково-дослідних робіт Одеського національного медичного університету (ОНМедУ) МОЗ України і є фрагментом теми: «Епігенетичні механізми реалізації дії фізичних факторів на структури головного мозку та гомеостаз», яка має державну реєстрацію (№ 0116u008928). Здобувач є співвиконавцем цієї теми.

Наукова новизна дослідження та отриманих результатів. Автором отримано низку принципово нових результатів щодо патогенетичних механізмів розвитку епілептичного синдрому на тлі впливу електродами постійного струму на структури мозочка та фронтальні відділи кори мозку. Так новими і одними із найбільш значущих є дані про пригнічення кіндлінг-провокованих судом шляхом впливу катодом постійного струму на структури мозочка, а також про особливості виникнення протисудомної дії такого подразнення за умови застосування електродів різної полярності у щурів із максимальними електрошоковими судомами.

Новими є результати щодо посилення протисудомного впливу постійним струмом на структури мозочка за умови застосування специфічного блокатора тирозин-кінази типу B – акситинібу. Причому, автор встановив, що ефект посилення реалізується також за умови активації дольки VI високочастотним (100 Гц) імпульсним струмом. Автором також доведена можливість блокування проепілептогенних впливів наночастинок срібла застосуванням акситинібу та подразнення мозочка. Новими та важливими є результати щодо посилення протисудомного впливу постійним струмом на мозочок за умови блокування NMDA-рецепторів (N-метил-D-аспарат) кетаміном у відношенні до генералізованих клоніко-тонічних судом та слабка виразність подібного ефекту на ранній стадії кіндлінгу, яка відтворює особливості генералізованої абсансної форми епілепсії. Вперше встановлено, що блокування γ -рецепторів, які активує пероксисомний проліфератор

(PPAR γ), застосуванням BADGE (2,2-[(1-метилетіліден) біс (4,1-феніленеоксіметилен)] біс-оксірану) (100,0 мг/кг, в/очер) усуває протисудомні впливи ТППС мозочка.

Також новими є дані щодо ефективності подразнень мозочка у відношенні до кіндлінг-викликаних порушень циклу спання-неспанья та порушень з боку електроенцефалограми, які свідчать про посилення десинхронізуючих механізмів мозку, відновлення характеристик парадоксального сну.

Слід зазначити, що вдало обраний контроль, а саме – подразнення постійним струмом структур фронтальної кори свідчить про специфічність зазначених ефектів, які реєструвались при транскраніальному подразненні мозочка.

Новизна дослідження підтверджується патентом України № 133587 «Спосіб усунення епілептичної активності», зареєстрованим у Державному реєстрі патентів України на корисні моделі від 10.04.2019.

Теоретичне значення отриманих результатів полягає у визначенні ролі рецепторів, які активує пероксисомний проліфератор (PPAR γ), у механізмах припинення епілептиформних проявів хронічного, а також меншою мірою – гострого епілептичних синдромів, які реалізовані на тлі активації структур мозочка через електроди постійним струмом. Також важливими є результати посилення протисудомних впливів подразнень постійним та імпульсним струмом палеоцеребелярної кори на тлі блокування активності тирозин-кінази В акситинібом, що спостерігалось за умови відтворення пентилентетразол-індукованого кіндлінгу. Подібні результати є принципово важливими для розуміння патогенетичних механізмів припинення епілептиформних проявів на тлі активації утворень мозочка. Також слід відзначити науково-теоретичне значення отриманих автором даних щодо залежності ефекту посилення протисудомного впливу активації мозочка на тлі блокування NMDA- рецепторів від стадії розвитку кіндлінгу, а також причетності механізмів регуляції циклу неспанья – спання до розвитку протисудомних впливів мозочка.

Практичне значення отриманих результатів. Отримані автором результати мають безсумнівне практичне значення. Так, клінічну перспективу має застосування методу неінвазивного подразнення мозочка постійним струмом на тлі застосування блокаторів тирозин-кінази типу В, зокрема акситинібу. З іншого боку, усунення протисудомних впливів на тлі блокування PPAR γ -рецепторів дозволяє припускати перспективність

застосування агоністів вказаних рецепторів та подразнень мозочка як ефективного методу зниження судомної активності. Зважаючи на застосування наночастинок срібла в медичній практиці, важливим є результат посилення судомної активності за умови їх системного застосування. Також отримані результати щодо ефективності кетаміну та подразнень мозочка обґрунтовують умови коректного застосування вказаних факторів в неврологічній практиці.

Результати досліджень впроваджено в науково-педагогічний процес на кафедрах патофізіології та ін. низки медичних та фармацевтичного закладів вищої освіти України.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень і висновків, сформульованих у дисертації. Наукові положення та висновки дисертаційної роботи Первака М.П. базуються на результатах експериментальних досліджень, які виконано відповідно до мети та завдань роботи. Слід зазначити, що постановка досліджень ретельно спланована автором. Це стосується як числа окремих серій спостережень, так і кількості щурів у відповідних групах. В усіх спостереженнях належна увага приділена групам контролю, що є важливим фактором, який забезпечує можливість коректного аналізу отриманих в основних групах результатів. Автором використана велика кількість лабораторних тварин (239 щурів лінії Вістар), що є адекватним вирішенню поставлених в роботі завдань та досягненню мети роботи.

Застосовано добре відомі та надійно відтворювані моделі епілептичного синдрому, які дозволяють вивчати патогенез як гострих, так і хронічних форм епілепсії. Автор отримав основний масив результатів шляхом візуального спостереження (контролю) поведінки щурів, а також реєстрації електричної активності структур мозку за допомогою комп'ютерного енцефалографа.

Точність вимірювань забезпечена використанням сучасних стереотаксичних атласів для вживлення електродів, гістологічним контролем їх положення, застосуванням сучасного нейрофізіологічного обладнання (комп'ютерного енцефалографа), а також джерел контрольованого за параметрами електричного струму та імпульсного струму (ЕСУ-1). Відповідні прилади метрологічно повірені, що забезпечує належну інформативність та надійність застосованих технологічних прийомів.

Отримані результати оброблено із застосуванням засобів описової та аналітичної статистики. Слід підкреслити адекватність вибору автором статистичних критеріїв порівняння, зокрема, використання критерію Шапіро-

Уілкі для визначення нормальності розподілу отриманих даних; методу ANOVA із тестом Н'юмана-Кеулза для інтервальних даних з нормальним характером розподілу; методу Крускала -Уолліса – для порівняння ординарних показників, зокрема тяжкості судом. Крім того, автором використано критерій “z” для порівняння відмінностей пропорцій в групах, наприклад, числа тварин з генералізованими клоніко-тонічними нападами. До уваги при формулюванні висновків автор бере статистично достовірні результати.

Зазначене засвідчує високий рівень виконання досліджень та безсумнівну обґрунтованість та достовірність наукових положень та висновків дисертаційної роботи.

Основний зміст дисертації та її структура. Дисертаційна робота Первак М.П. викладена українською мовою, оформлення роботи відповідає чинним вимогам МОН України до кандидатських дисертацій в галузі медицини.

Вступ до дисертації містить обґрунтування актуальності роботи, яке впливає з недостатньо ефективних на сьогодні методах лікування хворих на епілепсію, визнання науковою спільнотою перспективності та достатньої ефективності методів штучної активації структур мозку у пацієнтів з нечутливими до дії фармакологічних препаратів формами епілепсії. Автором наведені переконливі літературні дані як із зазначених підстав, так і щодо недостатності досліджень патогенетичних механізмів розвитку епілептичного синдрому на тлі активації структур мозку постійним струмом. Мета сформульована однозначно і переконливо, логічно витікає із попереднього аналізу літературних даних.

Автором сформульовані завдання дослідження, об'єкт та предмет дослідження, описані новизна отриманих результатів, їх практичне значення, визначено зв'язок дисертації з держбюджетними науково-дослідними роботами, а також задекларовано особистий внесок дисертанта у виконання роботи, узагальнення отриманих результатів та формулювання висновків.

У першому розділі роботи – огляді літератури, озаглавленому як «Сучасні уявлення щодо патогенезу епілептичного синдрому та механізмів припинення судомної активності», - автор послідовно розкриває функціональні зміни, які відбуваються на клітинному (нейрональному) та тканинному рівнях організації нервової системи за умови впливу постійним струмом. Чітко визначено електрофізіологічні, нейромедіаторні та нейромодуляторні механізми контролю збудливості головного мозку за умов подразнювальних впливів. Крім того, автор наводить дані щодо ролі мозочка

в контролі функцій головного мозку та епілептогенного збудження. Детальний аналіз сучасних даних літератури дозволяє авторів розставити логічні акценти на перспективних напрямках дослідження патогенезу епілептичного синдрому за умови подразнення структур мозку постійним струмом.

У другому розділі роботи - «Матеріали та методи досліджень» - викладено особливості проведення гострих та хронічних експериментів на 239 щурах, яких було розподілено відповідно до завдань роботи на групи контролю та основні групи спостереження. Автором належним чином описано біоетичні норми, яких дотримувались у процесі проведення дослідження. Чітко та з необхідним рівнем деталізації описано процедури оперативних втручань, а також впливу постійним та імпульсним електричним струмом на структури мозку, введення фармакологічних агентів, проведення спостережень та отримання інформативних критеріїв стану головного мозку щурів.

Слід зазначити, що автором використано моделі гострого та хронічного епілептичного синдрому, які моделювали за допомогою відповідно однократного та багаторазового введення пентиленететразолу – антагоніста ГАМК-гальмування. Також автором проведено спостереження на моделі гострих електрошокових судом, коли судоми розвивались на тлі вихідного збереження гальмівного контролю. Подібний спектр моделей є вичерпним та надійним з позицій отримання максимальної інформації щодо особливостей патогенезу за умов застосування подразнень структур мозку. Автор приділив достатню увагу статистичним методам обробки отриманих результатів, вказав, які критерії було використано при аналітичній статистичній обробці окремих даних.

У третьому розділі - «Вплив транскраніального подразнення постійним струмом (ТППС) структур мозку на епілептичну активність» - автор наводить власні результати досліджень, які стосуються визначення порівняльної ефективності відповідних впливів на гострі та хронічні судоми. Судоми відтворювали як застосуванням пентиленететразолу (ПТЗ), так і шляхом відтворення максимальних електрошокових судом, що є досить інформативним щодо ефективності застосування ТППС як засобу попередження судом. Відповідно, автором використано моделі епілептичного синдрому, в основі яких знаходиться як первинна недостатність гальмування нейронів (застосування ПТЗ), так і первинне переважання збудження на тлі вихідного збереження гальмівного контролю (максимальні електрошокові судоми).

Автором наведено результати застосування впливу електродами постійного струму на структури фронтальної кори та кори мозочка, а саме – його серединних структур, тобто кори палеоцеребелуму. Подразнення зазначених структур супроводжувалось виникненням протисудомної дії, однак, виразність протисудомного впливу кори мозочка виявилась значно вищою, ніж ТППС фронтальних відділів кори. Причому, протисудомні впливи стосувались як попередження поведінкових генералізованих клоніко-тонічних нападів, так і пригнічення електрографічних проявів генералізованої епілептиформної активності. Останнє є свідченням висхідних впливів мозочка, які здійснюють гальмування активності епілептизованих ділянок головного мозку.

Дисертантом наведено переконливі дані щодо тривалості ефектів попередження максимальних електрошокових судом за умови застосування ТППС мозочка як анодом, так і катодом. Встановлено принципово важливі результати, а саме – виникнення протисудомної дії в обох випадках, але при застосуванні аноду ефекти виникають в більш короткий післястимуляційний період і тривають менший період часу (до 2 годин). В той же час, протисудомна дія катоду триває до десятої години з моменту припинення ТППС.

Важливим результатом, є те, що автор визначив статистично більш виразний протисудомний вплив ТППС мозочка у відношенні до кіндлінг-провокованих судом порівняно з гострими судомами, викликаними пентиленететразолом.

В цілому, розділ вдало ілюстровано, відсутні повтори, зроблено акцент на основних результатах, які логічно передбачають наступні напрямки дослідження.

У четвертому розділі - «Особливості розвитку епілептичної активності на тлі сумісного застосування ТППС мозочка та нейротропних засобів» - автор викладає низку результатів стосовно механізмів розвитку та припинення епілептичної активності, які здійснюються за умови активації мозочка.

Так, в першому підрозділі автором наведено дані щодо поєданого застосування ТППС мозочка та акситинібу, який є інгібітором тирозин-кінази типу В.

Також автором визначено, що значне посилення протисудомного впливу ТППС мозочка досягається шляхом його комбінування із застосуванням відомих протисудомних препаратів – блокаторів тирозин-кінази типу В, зокрема акситинібу. Подібний ефект – взаємне посилення протисудомних впливів визначено також за умови прецизійного подразнення

ділянки палеоцеребелярної кори – дольки VI (declive – скат), що може вказувати на її участь як мішені впливів ТППС, які є більш генералізованими і поширюються на сусідні ділянки палеоцеребелуму. Слід також підкреслити вдалий вибір моделі кіндлінгу, для формування якої підвищення активності тирозин – кінази В є критичним.

З іншого боку, автором застосовано уведення наночастинок срібла, як засобу неспецифічного підвищення активності кіназ, у тому числі тирозин-кінази типу В. Власне цим автор пояснює полегшення виникнення кіндлінго-провокованої судомної активності на тлі застосування наночастинок.

Дисертантом наведені результати застосування ТППС мозочка за умови відтворення ранньої та пізньої форм ПТЗ-викликаного епілептичного синдрому, а також визначено ефективність сумісного застосування ТППС мозочка та кетаміну, який є блокатором збуджуючих NMDA-рецепторів. Цей підрозділ дозволяє визначити ефективність відповідних засобів за умов формування абсансної та власне судомної форм генералізованого епілептичного синдрому, що є важливим з позицій визначення його патогенезу. Подібний підхід засвідчив більш низьку ефективність комбінування ТППС та кетаміну на ранній – абсансній – стадії кіндлінгу і посилення протисудомного впливу за умов розвиненого кіндлінг-синдрому.

Також на моделі ПТЗ-індукованого кіндлінгу автор довів усунення протисудомного впливу 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-метилетіліден) біс (4,1-феніленеоксиметілен)] біс-оксірану (BADGE, 100,0 мг/кг, в/очер). Цей результат є принципово важливим, так як дослідження ролі PPAR γ в епілептогенезі останнім часом є актуальним як в експериментальній, так і клінічній епілептології. Крім того, цей факт може мати визначальне значення для реалізації функціональних впливів мозочка, які на сьогодні є досить численними і стосуються далеко не тільки контролю рухової активності.

У п'ятому розділі - «Цикл неспання – спання та біоелектрична активність мозку за умови ТППС мозочка» - автор наводить результати вивчення циклу неспання – спання у щурів з модельованим кіндлінговим синдромом, а також особливості циклу на тлі впливів постійним струмом на кору мозку та мозочку. Також в цьому розділі доречно наведено результати вивчення спектральної потужності коливань електрокортикограми, які дозволяють зрозуміти певні нейрофізіологічні механізми розвитку та припинення епілептичної активності. Автор встановив, що ТППС мозочка за допомогою катоду викликало зростання латентного періоду парадоксального

сну, в той час як ТППС анодом збільшувало тривалість парадоксального сну та одночасно зменшувало число циклів сну. Слід зазначити, що ТППС фронтальної кори також викликала виразні впливи на показники циклу неспаннтя – спання, особливо в разі застосування аноду – спостерігалось як зростання латентності, так і збільшення тривалості та зменшення фрагментованості парадоксального сну. Таким чином, ТППС як фронтальної кори, так і мозочка були ефективними у відношенні до відновлення кіндлінг-провокованих порушень циклу неспаннтя – спання. Крім того, автором встановлено, що зазначені впливи ТППС мозочка відбувались на тлі пригнічення потужності коливань низькочастотного спектру ЕкоГ (альфа-, а також дельта-діапазонів) та зростання потужності коливань високочастотного спектру – бета- та гама-діапазонів – у фронтальній корі.

Узагальнення та обговорення результатів проведене автором послідовно, в узгодженні з порядком викладення результатів в розділах дослідження. Автором вдало зроблено наголос на ключових результатах, які розкривають патогенетичні механізми припинення судомної активності за умов ТППС структур мозку. Загальний стиль викладення результатів свідчить про відповідний рівень наукової ерудиції дисертанта, вільне володіння даними сучасних літературних джерел.

Висновки дослідження є стислими, містять цифровий матеріал, твердження зроблено лише на статистично доведених достовірних відмінностях між досліджуваними групами та групами контролю. Всі висновки цілком розкривають масив отриманих даних.

Список літератури оформлений відповідно до вимог Національного стандарту України ДСТУ 8302:2015 «Інформація та документація. Бібліографічне посилання. Загальні положення та правила складання». Більшість цитованих в роботі джерел літератури датовані останніми п'ятьма роками.

Таким чином, загальний аналіз побудови та змісту дисертації свідчить, що дисертаційна робота Первака М.П. обґрунтована достатнім статистично достовірним матеріалом, який є методологічно витриманим.

Повнота викладення наукових положень дисертації в опублікованих працях. Результати дослідження висвітлено в 21 наукових роботах, які повністю відображують зміст проведених досліджень. Зокрема, дисертант є співавтором однієї монографії, яка індексована наукометричною базою даних SCOPUS, 6 статей, в тому числі 2 статей, які індексуються SCOPUS, 3 статей у наукових вітчизняних фахових виданнях, рекомендованих ДАК МОН України, та однієї статті у закордонному

наукометричному періодичному виданні. Причому в чотирьох журнальних статтях Первак М.П. є одноосібним автором. Крім того, за темою дисертаційних досліджень надруковані 11 тез доповідей та 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 викладено за однаковим структурно-описовим принципом. Оформлення автореферату та дисертації відповідає вимогам наказу МОН України №40 від 12.01.17 р. Автореферат відповідає тексту дисертації.

Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації та автореферату. При аналізі дисертацій й автореферату виникли деякі зауваження:

1. Рис. 3.5, на нашу думку, є зайвим, так як стосується результатів спостереження проявів, які не є суто судовими – на рисунку наведено тривалість чесального рефлексу.

2. В тексті дисертації зустрічаються поодинокі граматичні та стилістичні помилки.

Однак зазначені зауваження є незначними, редакційними і не впливають на загальну позитивну оцінку роботи.

В плані дискусії хотілось би почути думку автора щодо наступних питань:

1. Чому в якості контролю було обрано вплив електродами постійного струму на фронтальні відділи кори мозку ?

2. Чим пояснюється застосування наночастинок срібла в проведеному дослідженні?

3. На сьогодні застосовують «респонсивні» стимуляції для зниження епілептогенного збудження. Чи є відмінності між подібними подразненнями та впливами ТППС, зокрема на мозочок ?

4. Відомо що акситиніб є протипухлинним препаратом, який зменшує продукцію ендотеліального фактору росту судин (VEGF). Чи не вважаєте Ви, що саме цей фактор є причетним до реалізації ефектів як акситинібу, так і ТППС на судовну активність?

5. Які ефекти на кіндлінгову судовну активність викликав інгібітор γ -рецепторів, який активує пероксисомний проліфератор (PPAR γ), і чи

враховували Ви характер подібного впливу при дослідженні спільного застосування інгібітору та ТППС?

6. Зважаючи на те, що ТППС як фронтальної кори, так і мозочка мала своїм наслідком усунення кіндлінг-викликаних порушень з боку циклу неспання – сну, чи можна вважати причетність власне механізмів парадоксального сну в якості специфічних для реалізації протисудомної дії? Адже виразність протисудомних впливів ТППС кори мозку була меншою, а вплив на характеристики парадоксального сну – більшою.

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

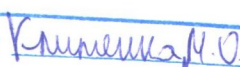
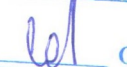
Дисертація Первака Михайла Павловича «Патофізіологічні механізми епілептичного синдрому за умов транскраніального подразнення постійним струмом (експериментальне дослідження)», подана на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія, - є завершеною кваліфікаційною науковою працею, що містить нові науково обґрунтовані результати проведених особисто здобувачем досліджень, які розв'язують конкретне наукове завдання, що має істотне значення для медичної галузі науки, зокрема для патологічної фізіології, і яке полягає у з'ясуванні в експерименті патофізіологічних механізмів епілептичного синдрому за умов транскраніального подразнення постійним струмом структур мозочка.

Таким чином, дисертація повністю відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567 (зі змінами), стосовно дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата наук, а її автор цілком заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія.

Офіційний опонент:

доктор медичних наук, професор
проректор з науково-педагогічної роботи та питань
розвитку, професор кафедри медичної біології та фізики,
мікробіології, гістології, фізіології та патофізіології
Чорноморського національного університету
імені Петра Могили МОН України

Клименко М.О.

Підпис 
Начальник ВК  О.А.

