

ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук, професора Потапова О.О. на дисертацію Первака Михайла Павловича

«Патофізіологічні механізми епілептичного синдрому за умов транскраніального подразнення постійним струмом (експериментальне дослідження)»,

яка подана до спеціалізованої вченої ради Д 55.051.05 Сумського державного університету МОН України на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія.

Актуальність обраної теми дисертації.

Патофізіологічні механізми епілепсії, експериментального епілептичного синдрому дозволяють визначити метод прецизійного впливу електричним струмом, іншими факторами фізичної природи як такі, що є ефективними у відношенні до припинення судомної активності. До арсеналу подібних факторів згідно даних останнього часу відносять вплив імпульсним магнітним полем, лазерним випромінюванням, електромагнітним випромінюванням міліметрового діапазону і навіть фокусованими ультразвуковими хвилями. Розширення переліку чинників, які здійснюють активацію ендогенних механізмів пригнічення судомної активності, пояснюється резистентністю проявів епілепсії, яка реєструється у третини хворих на епілепсію. В той же час, подразнення структур мозку електричним струмом виявляється ефективним, незважаючи на відсутність терапевтичного впливу сучасних протисудомних препаратів.

Тому актуальним є вивчення ефективності транскраніального впливу постійним струмом на окремі структури мозку і особливо мозочка, який можливо подразнювати неінвазивно, на прояви експериментального судомного синдрому та дослідити патофізіологічні механізми припинення судомних проявів за даних умов.

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

Дисертаційне дослідження Первака М.П. є частиною науково-дослідної роботи (НДР), яка виконується в Одеському національному медичному університеті (ОНМедУ) МОЗ України за темою: «Епігенетичні механізми реалізації дії фізичних факторів на структури головного мозку та гомеостаз» (№ державної реєстрації 0116u008928). Дисертант є співвиконавцем зазначеної НДР.

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

При виконанні досліджень дисертант чітко дотримувався мети роботи. У відповідності до кожного із завдань дослідження сформовано групи експериментальних тварин – контролю та основної групи спостереження, наведено умови проведення спостереження поведінкових та електрографічних характеристик, визначено основні інформативні критерії порівняння відмінностей між групами. Всього в роботі спостерігалось 239 щурів лінії Вістар, що є достатнім для отримання необхідного матеріалу та забезпечення достовірності нових результатів.

У дослідженні використано моделі гострих та хронічних форм епілептичного синдрому, які є добре відомими, відтворюють найбільш важливі патогенетичні механізми виникнення та розвитку експериментальної епілепсії і валідними щодо дослідження патогенезу судом за умов застосування транскраніальних подразнень постійним струмом (ТППС). Чітко, із застосуванням стереотаксичних координат мозку описано зони подразнення електродами постійного струму, наведено параметри подразнень відповідно до завдань окремих експериментальних серій.

Слід зазначити, що автором задля визначення механізмів патогенезу епілептичного синдрому використано фармакологічні агенти з доведеним високоселективним механізмом нейротропної дії, наприклад, інгібітор тирозин кінази В - акситиніб, антагоніст рецепторів, які активує пероксисомний проліфератор (PPAR γ) - BADGE, що також засвідчує достовірність отриманих результатів нейрофармакологічного аналізу патогенезу епілептичного синдрому.

Всі результати дослідження оброблено методами описової та аналітичної статистики, достовірні відмінності від груп контролю отримали детальний аналіз із залученням сучасних даних літератури. Вирішено поставлені в дослідженні завдання і відповідно сформульовано вісім висновків, які є цілком обґрунтованими та достовірними.

Таким чином, наукові положення дисертаційного дослідження та висновки є достовірними, обґрунтованими використанням високоінформативних та високовідтворюваних моделей епілептичного синдрому, інформативними та надійними методами дослідження і свідчать щодо цілісності та структурованості проведеного дослідження.

Наукова новизна отриманих результатів.

Дисертант встановив раніше невідомий протисудомний вплив ТППС зони мозочка кіндлінгових щурів, який виникає в різний термін з моменту здійснення подразнення залежно від типу електрода, яким його здійснювали.

Визначено режим і параметри струму, яким проводили ТППС, встановлено виразність протисудомного впливу у відношенні до генералізованих судомних проявів, а також електрографічних характеристик епілептичної активності. Проведене порівняння ефектів ТППС фронтальних відділів кори мозку та мозочка і доведена більша виразність протисудомних впливів подразнення саме структур мозочка. Визначено більшу виразність протисудомних впливів ТППС мозочка у відношенні до проявів хронічної форми епілептичного синдрому – моделі кіндлінгу порівняно до гострих судомних реакцій.

Автором вперше встановлено посилення протисудомної дії ТППС мозочка у відношенні до кіндлінгових судом на тлі пригнічення активності тирозин кінази типу В селективним антагоністом акситинібом. Доведено, що ефект посилення протисудомної дії подразнень мозочка акситинібом відбувається за участі структур кори мозочка, а саме - шостої дольки палеоцеребелума. Навпаки, активація кіназних систем застосуванням наночастинок срібла забезпечувала посилення кіндлінгових судом і усувалась як акситинібом, так і ТППС мозочка.

Також вперше автор довів, що реалізація протисудомних впливів ТППС мозочка здійснюється шляхом активації рецепторів, які активує пероксисомний проліфератор (PPAR γ). Їх блокування антагоністом PPAR γ дигліцидилового ефіру бісфенолу А - 2,2-[(1-метилетіліден) біс (4,1-феніленеоксіметілен)] біс-оксірану (BADGE) усувало протисудомні впливи ТППС мозочка.

Дисертант вперше встановив, що, крім поведінкових власне судомних проявів, під впливом ТППС усуваються й інші поведінкові, а також електрографічні розлади, які є притаманними кіндлінговій моделі епілепсії. Так, зокрема, автором вперше встановлено, що під впливом ТППС мозочка відновлюється викликана кіндлінгом тривалість фази парадоксального сну, так званої фази швидкого руху очей, а також зменшується його фрагментованість. Подібні зміни відбуваються на тлі зменшення потужності низькочастотних біоелектричних коливань електрокортикограми та зростанні потужності коливань високої частоти.

Слід зазначити, що завдяки відтермінуванню захисту роботи, яка була вимушеною внаслідок об'єктивних карантинних заходів в країні, дисертант продовжив наукову діяльність і отримав повноцінний 20-річний патент на винахід за № 121284 «Спосіб усунення епілептичної активності», який зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на винаходи від 27.04.2020, що значно піднімає науково-практичний рівень дослідження в цілому. Вважаю, що подібний результат заслуговує на прийняття до уваги в контексті офіційного захисту дисертації.

Теоретичне значення отриманих результатів.

Дисертантом встановлено залежний від активності мозочка механізм обмеження та пригнічення судомної активності, який реалізується як за умов гострих, так і хронічних судом на тлі подразнення мозочка електродами постійного струму. Дисертантом визначено принципово важливі шляхи реалізації протисудомної функції мозочка, які забезпечуються пригніченням активності тирозин-кінази типу В, а також активацією рецепторів PPAR γ . Встановлена можливість відновлення показників циклу неспання – сну, електрокортикографічних проявів, які є порушеними за умови моделювання хронічної форми епілептогенезу, під впливом подразнення мозочка постійним струмом. Слід також зазначити, що автором визначено роль активації тирозин-кінази типу В в реалізації проепілептогенних впливів системного застосування наночастинок срібла.

Практичне значення отриманих результатів. Отримані автором результати, а саме виникнення протисудомних впливів неінвазивного транскраніального подразнення структур мозочка електродами постійного струму та їх посилення застосуванням селективного інгібітора тирозин – кінази типу В акстинібом є новим (патент України на винахід № 121284) та ефективним засобом припинення епілептиформних проявів, який може бути прикладом позитивної трансляційної політики в галузі нейропатологічної фізіології. Можливим є подальший розвиток розробленої технології задля корекції порушень сну у хворих на епілепсію. Важливими є застереження щодо клінічного застосування наночастинок срібла, здатних посилювати епілептичну активність.

Результати дисертаційної роботи впроваджено в науково-педагогічний процес на кафедрі загальної та клінічної патофізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету, кафедрі патологічної фізіології Національного фармацевтичного університету (м.Харків), 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.

Основний зміст дисертації та його структура.

Дисертація Первак М.П. написана літературною українською мовою і її оформлення відповідає чинним вимогам МОН України щодо кандидатських дисертацій.

Вступ є лаконічним, акцентованим на основні напрямки, які підлягають розвитку в дисертаційному дослідженні. Дисертант визначає актуальність як складову від ролі мозочка в епілептогенезі, механізмів нейротропних ефектів

постійного електричного струму, а також значенні ензиматичних та рецепторних систем, зокрема – тирозин-кінази типу B, рецепторів PPAR γ , NMDA у формуванні експериментального епілептичного синдрому, що є переконливим.

Мета роботи виписана у повній відповідності до базових обґрунтувань актуальності роботи в цілому, а перелік окремих завдань є вичерпним та однозначно дозволяє досягти поставленої мети.

Також дисертант навів опис наукової новизни дослідження, практичне значення отриманих результатів, визначив свій особистий внесок.

Перший розділ – огляд літератури викладено на 22 сторінках комп'ютерного тексту. Автором послідовно та із залученням сучасних даних світової літератури проведено аналіз механізмів, режимів впливу електричного струму на діяльність структур мозку. Важливим є те, що подібний аналіз проводиться у співставленні з патогенетичними механізмами експериментального епілептичного синдрому, що врешті рещт дозволяє чітко обґрунтувати актуальність та перспективні напрямки дослідження. Також визначено перспективність досліджень впливів саме ТППС на структури мозочка, як утворення, що належить до антиепілептичної системи мозку.

В розділі матеріалів та методів дослідження (другий розділ дисертації, який займає 10 сторінок) автором наведені дані щодо розподілу експериментальних тварин на групи. Автор дотримується принципу визначення відповідного контролю до кожної із груп спостереження. Також достатньо описано експериментальні моделі епілептичного синдрому, які було застосовано в дослідженні, методи отримання інформаційних показників, зокрема поведінкових характеристик, електроенцефалографічної активності. Чітко наведено параметри впливу електричним струмом на структури мозку, детально описано статистичні процедури оцінки отриманих результатів.

Отримані результати викладено в логічній послідовності та відповідності до поставлених в роботі завдань. Так, в третьому розділі дослідження (19 сторінок) визначено як вплив електродами постійного струму локально на кору мозку (фронтальні відділи), так і на зону мозочка на прояви судомної активності у щурів із гострими та хронічними судомами. Автором наведено безперечні факти протисудомної дії ТППС мозочка на моделі хронічної епілептизації мозку – класичної моделі ПТЗ-індукованого кіндлінгу, а також на моделі максимальних електрошокових судом. Вказаний протисудомний вплив перевищував за своєю виразністю ефекти попередження судомних проявів, які спостерігали на моделі гострих судом, а також при ТППС фронтальних відділів кори.

Важливими є встановлені результати щодо відмінності у впливі ТППС мозочка анодом та катодом. Так, зокрема, встановлено більшу ефективність стимуляції анодом в ранньому періоді з моменту її здійснення, в той час як стимуляція катодом є ефективною у віддаленому періоді. Подібні відмінності можуть бути важливими для пояснення неоднозначної ролі структур мозочка у формуванні проявів епілептичного синдрому.

Механізми реалізації впливів ТППС на прояви епілептичного синдрому автор визначає в четвертому розділі дослідження, який викладений на 34 сторінках машинопису. На моделі хронічного епілептичного синдрому – ПТЗ-кіндлінгу автором встановлено посилення протисудомного впливу ТППС мозочка застосуванням акситинібу, який є селективним інгібітором тирозинкінази типу В. Вибір препарату є вдалим, так як висока активність тирозинкінази В є критичною для формування кіндлінгових судом. Також важливим є те, що автор доводить аналогічну можливість посилення протисудомних ефектів також при цілеспрямованому подразненні електричним струмом певної ділянки палеоцеребелуму, а саме – кори шостої дольки. Цей результат доводить, що саме відповідна кора мозочка є осередком, який приймає участь в реалізації ефекту ТППС та його потенціювання акситинібом.

Також на моделі фармакологічного кіндлінгу (підрозділ 4.2) автором вивчено характер судом за умови застосування наночастинок срібла, які було обрано в якості неспецифічного активатора кіназних ензимів. Причому, посилення епілептичних судом, яке було викликане їх застосуванням блокувалось введенням акситинібу, що вказує на провідну роль саме активації тирозинкінази типу В у формуванні ефектів наночастинок на судомні кіндлінгові прояви. Виходячи з цього, автором визначено усунення проепілептогенних впливів наночастинок та обґрунтована думка щодо пригнічення активності тирозинкінази В при ТППС мозочка.

На тлі застосування кетаміну блокатора NMDA-рецепторів, активність яких є необхідною для формування еферентних впливів кори мозочка, автором встановлено незначне посилення протисудомних ефектів ТППС мозочка у відношенні до сформованих генералізованих кіндлінгових судом (підрозділ 4.3). Подібний результат може свідчити щодо необхідності збереження функціональної здатності кори мозочка для розвитку відповідних протисудомних впливів, що також підтверджують результати посилення проявів ранніх кіндлінгових судом під впливом застосування кетаміну.

Застосування препарату, який блокує γ -рецептори, які активує пероксисомний проліфератор (PPAR γ), а саме - дигліцидилового ефіру бісфенолу А - 2,2-[(1-метилетіліден) біс (4,1-феніленеоксіметілен)] біс-оксірану (BADGE) в дозі 100,0 мг/кг, вочер усувало протисудомні впливи

ТППС мозочка (підрозділ 4.4). Цей результат свідчить щодо ролі PPAR γ у розвитку протисудомних ефектів мозочка.

В цілому четвертий розділ містить 10 ілюстрацій та 9 таблиць, які є достатньо інформативними та доповнюють текст розділу.

В п'ятому розділі дослідження на 23 сторінках викладено власні результати спостереження поведінкових та електрографічних характеристик піддослідних тварин за умов ТППС. Так, зокрема в першому підрозділі (5.1) йдеться щодо вивчення характеристик циклу неспанья-спанья у щурів із сформованим уведенням епілептогену кіндлінгом, а також особливостей циклу на тлі застосування ТППС мозку. Автором встановлена принципова можливість зменшення фрагментованості, а також подовження тривалості фази парадоксального сну, які порушені у зв'язку із відтворенням моделі фармакологічного кіндлінгу, під впливом ТППС мозочка. Подібний ефект є важливим та розкриває можливу причетність структур мозочка до механізмів регуляції сну. Крім того, за умови ТППС визначено, що подібні зміни збігаються із зменшенням потужності низькочастотних та зростанням потужності високочастотних біоелектричних ритмів у фронтальних відділах кори головного мозку. Подібні зміни прийняті автором до уваги та переконливо проаналізовані із позицій реалізації ефектів антиепілептичної системи мозку. Слід також зазначити, що в цих спостереженнях визначено дещо більш виразні впливи на електрографічні показники ТППС фронтальної кори порівняно до ТППС мозочка. Розділ викладений на 23 сторінках комп'ютерного тексту і ілюстровано 10 рисунками.

В розділі узагальнення результатів автором наведено достатній аналіз можливих механізмів виникнення та розвитку поведінкових та електрографічних епілептиформних проявів, які реалізуються за умови застосування ТППС структур мозку. До проведення подібного аналізу автор залучив сучасні достеменно доведені механізми формування епілептичного синдрому, а також механізми причетні до реалізації впливів мозочка та ТППС структур мозку.

Отримані дисертантом результати дозволили сформулювати вісім висновків, які чітко співвідносяться із завданнями роботи і свідчать щодо успішного вирішення поставлених в дослідженні завдань.

Список літератури оформлений відповідно до вимог Національного стандарту України ДСТУ 8302:2015 «Інформація та документація.

Бібліографічне посилання. Загальні положення та правила складання». Більша частина літературних джерел датована останнім часом.

Проведений аналіз свідчить, що дисертація за своєю структурою, сутністю та оформленням відповідає чинним вимогам, положення роботи є достовірними та обґрунтовані статистичними методами обробки отриманих даних.

Повнота викладення наукових положень дисертації в опублікованих працях.

Дисертантом надруковано 21 наукова праця за темою дисертації. Зокрема, дисертант є співавтором однієї монографії, зареєстрованої в наукометричній базі Scopus. Крім того, 2 із 5 журнальних фахових статей, рекомендованих МОН України, також відносяться до цієї ж бази. Ще одна журнальна публікація вийшла у закордонному наукометричному періодичному виданні. Слід підкреслити, що чотири статті є одноосібними працями дисертанта. Також результати докладено на наукових профільних зібраннях і, відповідно, надруковано 11 тез доповідей. Дисертант є автором патенту України.

Основні наукові положення дисертації знайшли вичерпне відображення у друкованих наукових працях.

Ідентичність змісту автореферату й основних положень дисертації.

Дисертаційна робота та автореферат витримано у загальноприйнятому науковому стилі, ілюстративний матеріал є достатньо інформативним, не перевантажений деталями і допомагає сприймати текст роботи. 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 вказати на деякі зауваження:

Кількість висновків незначно переважає кількість завдань дослідження (8 та 7 відповідно). Другий та третій висновок можна було б об'єднати.

У завданні 4 вказано на необхідність дослідження особливостей ЕЕГ, а у висновку 5 мова іде про зміни ЕКОГ у щурів.

Переважає кількість використаних джерел видана більше п'яти років тому (206 з 338).

В тексті роботи є окремі граматичні та стилістичні помилки, які, однак, не мають принципового характеру, не впливають на науково-практичне значення роботи та її загальну позитивну оцінку.

Також до дисертанта виникли деякі дискусійні питання:

1) Наскільки специфічними для хронічної форми епілепсії є порушення циклу неспання-спанья та зміни електрокортикограми?

2) В роботі визначено, що ТППС більшою мірою попереджає тяжкі судоми аніж легкі. Які патогенетичні механізми відповідальні за подібний ефект?

3) Тривалість ефектів ТППС досить значна. Які механізми знаходяться в основі розвитку різних за тривалістю ефектів?

4) Чому у проведеному дослідженні зосередились переважно на використанні ТППС саме мозочка, а не інших частин мозку?

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)», яка представлена на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук, є закінченою, самостійно виконаною працею, у якій вирішено актуальну наукову проблему, що полягає у визначенні патогенетичних механізмів 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 (експериментальне дослідження)» – 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 нейрохірургії та неврології
Сумського державного університету

МОН України

доктор медичних наук, професор

О.О. Потапов

