

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу здобувача кафедри фізіології та біофізики Одеського національного медичного університету Єгоренко Ольги Сергіївни на здобуття наукового ступеня доктора філософії за темою “Патофізіологічні механізми розвитку експериментального епілептичного синдрому, залежні від гістамінергічної системи мозку”
за спеціальністю 222 “Медицина”

1. Актуальність теми дисертації

Згідно з визначенням Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), епілепсія — це хронічне захворювання нервової системи, що характеризується стійкою схильністю до виникнення епілептичних нападів. Епілепсія є хронічним неінфекційним захворюванням головного мозку, яке виникає незалежно від віку пацієнта. Епілепсія займає третє місце за поширеністю серед хвороб нервової системи, яка складає 5-10 хворих на 1000 осіб. Середня захворюваність у світі епілепсією становить 50-70 випадків на 100000 осіб. В країнах з високим рівнем життя щорічно реєструють близько п'ятидесяти нових випадків на 100.000 населення, в той час як в країнах з низьким рівнем життя цей показник сягає майже втричі вищої величини.

Важливо зазначити, що частота фармакорезистентної епілепсії у розвинутих країнах, що дотримуються сучасних стандартів лікування, досягає 30-40% від загальної кількості пацієнтів з епілепсією. В Україні на сьогодні офіційно зареєстровано близько чверті мільйона пацієнтів, що певною мірою співставимо за світовими показниками.

Епілепсія є небезпечним для життя пацієнтів захворюванням, яке втричі підвищує ризик виникнення раптової несподіваної смерті пацієнта (SUDEP) порівняно до решти населення. Крім того, перебіг захворювання є прогресивним, пов'язаним із виникненням коморбідних станів, зокрема тривожності, депресії, когнітивних порушень, що значно впливає на якість життя пацієнтів, підвищує ризик травматизації, а також суїцидів. У хворих на резистентну до фармакологічного лікування форму захворювання, яка спостерігається у третини всіх клінічних випадків, значно скорочується середня тривалість життя.

Повне виліковування від епілепсії можливе лише в окремих випадках і спостерігається при певних легких формах хвороби або при хірургічному

усунені першопричини. Також заслуговує на увагу низька ефективність контролю проявів епілепсії, яка на сьогодні є задовільною лише у двох третин хворих на епілепсію.

Таким чином, на сьогодні актуальними є питання патогенетичного обґрунтування нових підходів щодо лікування епілепсії, контролю судомної активності. Представлена до захисту кваліфікаційна робота присвячена одній із ключових проблем сучасної нейропатології, а саме - вивченню патогенезу епілептичного синдрому з позицій визначення залежних від стану гістамінергічної системи мозку механізмів контролю судом, а також поведінкових коморбідних порушень.

Обрана тематика відповідає тематиці виконання роботи на замов МОЗ України. А також рекомендаціям Міжнародної Протиепілептичної Ліги (ILAE) щодо розробки нових, більш ефективних підходів до лікування тяжких форм епілепсії.

Враховуючи вищенаведене, актуальність теми наукового дослідження Ольги ЄГОРЕНКО для сучасної фундаментальної наукової медицини, а також перспективність для використання в практичній роботі неврологів та епілептологів, в цілому не викликає сумніву.

2. Зв'язок теми дисертації з державними та галузевими науковими темами. Матеріали дисертації містять результати науково-дослідних робіт кафедри фізіології та біофізики Одеського національного медичного університету (ОНМедУ) МОЗ України на тему: Держбюджетна НДР МОЗ України «Підвищення ефективності контролю епілептичної активності застосуванням фармакологічних препаратів та неінвазивного подразнення структур мозку» Держ.реєстрація за №0121114510 (2022-2024) та НДР «Дослідити нейроповедінкові коморбідності при хронічній фармакорезистентній епілепсії на прикладі електростимуляційного та хімічного кіндлінгу з метою розробки фармакологічних методів їх корекції» Держ.реєстрація за №0121U113811 (2022-2026). Дисертант є співвиконавцем вказаних науково-дослідних тем.

3. Наукова новизна отриманих результатів.

Дисертант вперше виконав дослідження впливу пітолізанту на моделях гострих судом, індукованих застосуванням пентилентетразолу (ПТЗ), а також максимальним електрошоком, що дозволило визначити дозозалежність виникнення протисудомної дії, а також визначити особливості ефектів на моделях вогнищевої та генералізованої клоніко-тонічної форми захворювання. Вперше на моделі хронічного епілептичного синдрому встановлено протисудомну ефективність застосування пітолізанту на

формування ПТЗ-викликаних судом, а також на моделі розвинених генералізованих кіндлінгових судом.

Вперше доведено посилення протисудомного впливу пітолізанту на тлі застосування піоглітазону, який є агоністом PARP-γ - рецепторів, які активує проліфератор пероксисом гама типу. Встановлено посилення протисудомного впливу як у відношенні до електрографічних, так і поведінкових проявів судомної активності.

Вперше на моделі хронічного епілептичного синдрому визначено попередження ангіогенезу у фронтальних відділах кори мозку, а також вмісту гіпоксія-індукованого фактора (HIF-1α) в структурах гіпокампа на тлі застосування впливу досліджуваних нейромодуляторів. Цей результат вказує на протизапальну дію пітолізанту та піоглітазону, як механізму протисудомної ефективності препаратів.

Новими та перспективними є результати дослідження поведінкових розладів, які зареєстровані у кіндлінгових щурів в міжнападному періоді. Автором доведено попередження викликаних ПТЗ-кіндлінгом рефлекторних позо-тонічних реакцій, зниження больової чутливості, попередження депресивно-тривожних розладів, а також порушень навичок активного уникнення та дискримінативного індексу в тесті розпізнавання нових об'єктів.

Результати дисертаційного дослідження викладені в повному обсязі в опублікованих наукових працях.

Таким чином рівень наукової новизни є достатнім і відповідає вимогам, визначеним основними нормативними положеннями щодо написання та оформлення кваліфікаційних робіт.

4. Теоретичне значення отриманих результатів дослідження.

Дисертант визначив патогенетичне значення залежних від НЗ гістамінергічної регуляції механізмів припинення гострої та хронічної судомної активності, а також корекції коморбідних поведінкових когнітивних, тривожно-депресивних розладів, больової чутливості, порушень циркадіанного ритму. Також визначено залежність виразності коригуючого впливу модуляції НЗ рецепторів від стану PARP-γ рецепторів, що має важливе значення з позицій їх ролі в багатьох захворюваннях нервової системи. В цьому ж контексті слід підкреслити визначення протизапальної ефективності сумісного застосування пітолізанту та піоглітазону, яку автор довів на моделі хронічно епілептичного синдрому.

5. Практичне значення результатів дослідження.

Робота є фундаментальним дослідженням і отримані результати відкривають нові перспективні підходи в частині апробації комбінованого застосування модуляторів гістамінергічної системи рецепторів, які активує проліфератор пероксисом гама типу при різних нейропатологічних синдромах, в патогенезі яких важливу роль відіграє запалення нервової тканини.

Практичне значення також підтверджують акти впровадження результатів дисертаційного дослідження в роботу кафедр медичних університетів України з питань патогенезу порушень збудливості нервової системи, ролі запалення нервової тканини у формуванні нейропатологічних синдромів.

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

Робота Ольги ЄГОРЕНКО є завершеним, самостійним науковим дослідженням і її внеском у вивчення патогенезу епілептичного синдрому, визначення гістамінергічних механізмів, які реалізуються за участі гістамінових рецепторів третього типу у формуванні гострих та хронічних - парціальних та генералізованих форм судомних проявів, а також міжнападкових поведінкових розладів, порушень циркадіанного циклу неспання-спання. Автором застосовано адекватні методичні підходи, які є високоінформативними, відтворюваними та дозволяють отримати надійні показники стану збудливості структур головного мозку, поведінки щурів, а також імуногістохімічних показників формування нейрозапалення тканини головного мозку, як патогенетично визначальним щодо механізмів формування епілептичної активності. Важливим є обґрунтування залежних від гістамінергічних механізмів контролю збудливості також механізмів активації PARP- рецепторів гама типу.

Усі положення, висновки роботи є науково обґрунтованими, при їх формулюванні використано достатнє число спостережень, а також статистично достовірні результати. Дизайн дослідження розроблений в співпраці із науковим керівником. Автором особисто виконано бібліографічний аналіз доступних джерел літератури, зроблено узагальнення перспективних напрямків подальших досліджень, сформульовано мету та завдання роботи. Здобувач самостійно розробила та створила первинну електронну базу результатів досліджень, провела статистичний аналіз результатів електрофізіологічних, поведінкових та імуногістохімічних досліджень за допомогою пакетів прикладних програм, зокрема MS Excel,

дисертантом особисто проведено кількісний аналіз імуногістохімічних зображень тканини мозку експериментальних тварин.

Достовірність результатів роботи впливає із чіткого дизайну досліджень, застосування надійних моделей епілептичного синдрому, виважених та сучасних методичних підходів проведення патофізіологічного експерименту, достатнього числа експериментальних результатів статистичної обробки отриманих даних.

Проведення експериментальних спостережень здійснено у відповідності до сучасних біоетичних норм, які було затверджено на засіданні комісії з біоетики від 05.05.2022 р.

Первинна документація наявна і перевірена комісією з перевірки первинної документації відповідно до наказу ОНМедУ від 26.08.25 р. за № 456-о.

Статистичну обробку результатів досліджень автор провела із застосування он-лайн ресурсу “Statistics Kingdom”, який є у відкритому доступі (<https://www.statsgiving.com>), а також пакету статистичних програм SPSS-21. Для обробки інтервальних показників застосовано тест ANOVA з post-hoc тестом Newman-Keuls, для порівняння ординальних показників - Kruskal-Wallis з post post-hoc Dunn'a Tukey тестами та іншими.

7. Структура дисертації

Дисертація Ольги ЄГОРЕНКО оформлена у відповідності до чинних вимог МОН України і містить анотації, вступ, огляд літератури, розділ матеріалів та методів дослідження, два розділи власних досліджень, розділ узагальнення та обговорення результатів роботи, висновки, список використаних джерел літератури, який включає 265 найменувань, з яких 47 викладено кирилицею, та 238 - латиницею, а також додатки. Основний текст роботи займає 158 сторінок комп'ютерного тексту, який викладений доброю українською мовою. Робота ілюстрована 19 рисунками та 10 таблицями.

У вступі автор обґрунтовує актуальність обраного напрямку досліджень, зазначає мету та завдання дослідження, методи, об'єкт та предмет дослідження, наукову новизну та практичне значення отриманих результатів, зв'язок з науково-дослідними роботами кафедри фізіології та біофізики Одеського національного медичного університета.

Перший розділ - огляд літератури містить дані щодо ролі гістамінергічної системи в контролі збудливості головного мозку, формуванні нейропатологічних синдромів. Наведено результати та механізми впливу нейромодуляторів на стан гістамінергічної системи та збудливість

нейрональних структур мозку. Детально представлено аналіз моделей, які є найбільш інформативними в експериментальній епілептології і використовуються науковою спільнотою з метою дослідження патогенезу епілепсії. Зокрема, визначено переваги використання хронічного експериментального епілептичного синдрому, викликаного методом фармакологічного (пентилентетразолового) кіндлінгу.

Другий розділ роботи присвячений опису експериментальних процедур, які дозволяють вирішити поставлені в дослідженні завдання. Автором наведено дизайн, методики моделювання гострого та хронічного епілептичного синдрому, детально описані електрофізіологічні, поведінкові, імуногістохімічні та статистичні процедури.

У **третьому розділі** роботи автор наводить результати вивчення вогнищевої епілептичної активності в корі головного мозку, спричиненої системним застосуванням ПТЗ дозою 50,0 мг/кг, в/очер та особливостей динаміки за умов модуляції гістамінергічної системи застосуванням пітолізанту, а також його поєднання з агоністом PARP-γ піоглітазоном. Визначено, що потужність вогнищевої активності зростає за механізмом синергії за умови поєднаного застосування нейромодуляторів. Також вивчено особливості проявів гострих судом за умови застосування досліджуваних препаратів. Визначено протисудомні ефекти, виразність яких зростає на тлі сумісного застосування пітолізанту та піоглітазону. Досліджено вплив нейромодуляторів на формування ПТЗ-індукованого кіндлінгу, а також на прояви розвиненого кіндлінгу. На завершення розділу автор наводить кількісну оцінку імуногістохімічного маркування структур мозку щурів із хронічним епілептичним синдромом - колагену IV та HIF-1α, як маркерів запального процесу. Визначено зниження експресії зазначених маркерів запалення у фронтальній корі головного мозку, а також в структурах гіпокампа. Викладення результатів і з'ясування механізмів реалізації протисудомного впливу пітолізанту та піоглітазону є логічним, вичерпно відповідає завданням дослідження.

Четвертий розділ роботи містить результати, присвячені вивченню поведінкових компонент, які у щурів з ПТЗ-індукованим кіндлінгом носять сталий характер і присутні тривалий час в інтеріктальному періоді.

На початку розділу автор наводить результати вивчення впливу пітолізанту на кіндлінг-викликані порушення циклу неспання-спанья. Встановлено, що на тлі застосування пітолізанту усувається фрагментарність парадоксального сну, зменшується латентний період його появи та збільшується представленість в загальному континуумі фаз циклу. Автор

наводить характеристику тестів, спрямованих на вивчення рухових реакцій щурів, утримання пози, а також деяких специфічних проявів - екзофтальму, тону хвоста. Отримані дані засвідчують, що під впливом комбінованого застосування препаратів відновлюються відповідні компоненти до рівня контролю. Причому, больова реакція у відповідь на механічне подразнення хвоста також зменшується на тлі застосування досліджуваних нейромоделюляторів. Також автор наводить результати застосування нейромоделюляторів на показники рухової активності кіндлінгових щурів в тесті відкритого поля.

Розділ аналізу та обговорення результатів містить низку логічно пов'язаних між собою положень, результатів автора в співставленні з сучасними дослідженнями, які підтверджують висновки та відповідають змісту дисертаційного дослідження.

Висновки роботи сформульовано на основі статистично достовірних результатів у відповідності до завдань та мети дослідження.

Список літературних джерел оформлено відповідно до чинних вимог.

Повнота викладу матеріалів в опублікованих працях.

Наукові результати досліджень повністю оприлюднено в опублікованих наукових роботах. За матеріалами дисертаційного дослідження опубліковано 21 наукова праця, 7 статей у наукових фахових виданнях, рекомендованих МОН України (з їх числа дві статті в наукометричних виданнях, які індексуються базою Scopus, а також одна одноосібна), 14 тез доповідей на науково-практичних міжнародних конференціях та конгресах за фахом дисертаційної роботи, з яких п'ять абстрактів надруковано в журналах індексованих базою Scopus.

Наявність ознак академічного плагіату та порушень доброчесності.

Порушення академічної доброчесності дисертанткою під час виконання автором дисертаційного дослідження та написання роботи не виявлено. Дисертаційне дослідження містить посилання на першоджерела цитованої інформації. Виконано усі вимоги щодо дотримання прав на інтелектуальну власність.

Рекомендації щодо подальшого використання результатів дисертації у практичній діяльності.

Встановлені дисертантом закономірності та наведені результати можливо застосувати при обранні шляхів покращення лікувальних заходів у пацієнтів, які страждають на епілепсію, особливо у фармакологічно резистентних випадках. Також перспективним є застосування модуляторів гістамінергічної системи і агоністів PARP-γ рецепторів з метою припинення

проявів нейропатологічних синдромів, в основі яких знаходиться запалення нервової тканини.

В процесі рецензування виникли запитання до дисертанта:

Питання:

Маркер колагену четвертого типу є достатнім щодо верифікації запального процесу. Чому Ви досліджували також експресію гіпоксія-індукованого фактору HIF-1 α ?

Який механізм може на Вашу думку зниження больової чутливості щурів за умови застосування пітолізанту та піоглітазону?

Чому було обрано модель кіндлінгу, яку відтворювали щодобовим застосуванням епілептогену - пентиленететразолу, а не інші моделі хронічного епілептичного синдрому?

Висновок:

Дисертаційна робота здобувача кафедри симуляційних медичних технологій Одеського національного медичного університета Ольги ЄГОРЕНКО на тему "Патофізіологічні механізми розвитку експериментального епілептичного синдрому, залежні від гістамінергічної системи мозку" є завершеною науковою працею, в якій доведено протисудомну ефективність модуляції НЗ гістамінових рецепторів пітолізантом, а також синергії із агоністом рецепторів, активованих проліфератором пероксисом гама типу - піоглітазоном на моделях гострих та хронічної форм епілептичного синдрому. В роботі використані сучасні новітні методи дослідження, проведено адекватний статистичний аналіз отриманих даних, на основі визначених достовірних відмінностей обгрунтовано висновки, які свідчать щодо досягнення поставленої мети дослідження.

Таким чином, дисертаційна робота Ольги ЄГОРЕНКО, що подана на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань "Охорона здоров'я" за спеціальністю 222 "Медицина" є завершеною науковою працею, що має наукову новизну і перспективу подальшого використання на шляху удосконалення засобів контролю епілептогенного збудження та запалення нервової тканини, яка вирішує актуальне сучасне науково-теоретичне завдання, а саме - визначає можливість застосування модуляторів гістамінергічної системи мозку та функціонально залежних PARP- γ рецепторів у припиненні судом.

Виходячи з вищезазначеного, дисертаційна робота Ольги ЄГОРЕНКО повністю відповідає вимогам, передбаченм п. 6-8 "Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої

вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії”, затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України за №44 від 12.01.2022 р., відносно дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань “Охорона здоров’я” за спеціальністю 222 “Медицина”, а її автор заслуговує на присудження ступеня доктора філософії.

Рецензент

Професор кафедри загальної і клінічної фармакології та фармакогнозії, академік НАМН України, з.д.н.т. України, професор

