

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Яценко Катерини Валентинівни «Механізми органічного ураження головного мозку і методи їх корекції», представлену до офіційного захисту в спеціалізовану вчену раду Д 26.198.01 при Інституті фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія.

Актуальність обраної теми. Органічні пошкодження головного мозку надзвичайно різноманітні за етіологією та патогенезом: черепно-мозкова травма, ішемія мозку, локальні крововиливи, пологові травми плоду, тощо. Вони призводять до тяжких наслідків у вигляді ДЦП, епілепсії, рухових порушень, розладів пам'яті, мислення, нейродегенеративних захворювань. Дослідження патогенезу органічних уражень головного мозку і пошуки оптимальних методів лікування їх ускладнень є нагальною проблемою патологічної фізіології, до якої долучалась і долучається величезна кількість дослідників і лікарів. К.В. Яценко обрала для своєї роботи вивчення перивентрикулярної лейкомаляції - дуже поширеної патології, яка спричинює ДЦП, симптоматичну епілепсію, гіпоксично-ішемічні ускладнення. Зважаючи на складність патології та необхідність подальшого поглибленого дослідження її патогенезу, а також ефективності лікування із застосуванням нових інструментальних можливостей, слід привітати роботу К.В. Яценко у даному напрямку і визнати її актуальність.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність і новизна, повнота їх викладу в опублікованих працях та авторефераті.

Як свідчить загальний аналіз дисертаційної роботи, К.В. Яценко, завдяки правильно сформульованим меті і задачам дослідження, його дизайну, обраним сучасним і адекватним методикам, творчому підходу і прискіпливому аналізу результатів досягла поставленої мети. У результаті виконання отримано науково

обґрунтовані нові дані, які мають не лише суто теоретичне значення, але й вказують на шляхи вдосконалення терапії органічних уражень головного мозку, які були здобувачем перевірені і підтверджені результатами клініко-патофізіологічних досліджень у дітей з ДЦП, хворих на симптоматичну епілепсію та з гіпоксично-ішемічною енцефалопатією.

Основні наукові положення, висновки і практичні рекомендації, які містить дисертаційна робота К.В. Яценко, аргументовано результатами численних експериментальних і клінічних досліджень з використанням великого спектру сучасних методів - імуногістохімічних, інструментальних, електронної мікроскопії, електроенцефалографії, електронейроміографії, кофокальної мікроскопії, технології стовбурових клітин, клітинної культури, тощо. Успіху роботи сприяла співпраця з колегами з Інституту генетичної та регенеративної медицини НАМНУ, Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАНУ. Такий комплексний підхід разом із коректним статистичним обробленням отриманих даних значно посилює обґрунтованість висновків. Перивентрикулярну лейкомаляцію змодельовано в експериментах *in vivo* та *in vitro*. В досліджах використовували щурів Wistar 3-, 6-денного віку, 7-денних та 3-4-місячних самців мишей лінії FVB; 4-місячних самок та плодів 18-19 доби ембріонального розвитку мишей лінії FVB-C-Tg(GFPU)5Nagy/J, трансгенних за зеленим флюоресцентним білком (FVB). Для перевірки ефективності мікрополяризаційної нейростимуляції здобувачем створено власну експериментальну модель перивентрикулярної лейкомаляції на органотиповій культурі зрізів головного мозку миші і отримано відповідний патент. Адекватність гіпоксично-ішемічної моделі перивентрикулярної лейкомаляції верифіковано ураженням мієлінової оболонки нервових волокон і олігодендроцитів і реактивним гліозом – активацією астроцитів і мікроглії. Обстежено і проліковано за авторською методикою неінвазивної нейростимуляції (мікрополяризація та ін.) 167 пацієнтів. Доведено, що включення транскраніальної мікрополяризації до лікувально-реабілітаційного комплексу пацієнтів з перивентрикулярною

лейкомаляцією сприяє позитивній динаміці електронейроміографічних, електроенцефалографічних та доплерографічних показників. Позитивний ефект лікування підтверджує правильність отриманих в експерименті даних про патофізіологічні механізми розвитку перивентрикулярної лейкомаляції.

Автореферат і публікації автора роботи повно віддзеркалюють основний зміст дисертації.

Висновки базуються на вірогідних результатах власних досліджень здобувача, вони відповідають меті і задачам роботи, характеризуються новизною.

За результатами дисертаційного дослідження опубліковано 32 наукові роботи, з яких 22 статті у вітчизняних та іноземних наукових журналах фахового спрямування, 1 патент та 10 тез доповідей у матеріалах вітчизняних і міжнародних наукових конференцій та з'їздів.

Новизна результатів роботи, наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації є очевидною.

Отримано нові наукові дані про патогенез перивентрикулярної лейкомаляції. На експериментальній моделі ішемії-реперфузії головного мозку миші в поєднанні з індуктором запалення - ліпополісахаридом (бактеріальним ендотоксином) охарактеризовано її морфологічні особливості і деградацію мієлінового протеїна, продемонстровано активацію нейрогенезу в субгранулярній зоні зубчастої звивини гіпокампа. Вперше доведено, що імплантація прогеніторних нейрогенних стовбурових клітин у гіпокамп дослідних тварин удвічі посилює нейрогенез. Вперше на моделях *in vitro* на зрізах гіпокампа новонароджених мишей і дисоційованій культурі нейронів гіпокампа, які піддавали глюкозно-кисневій депривації в поєднанні з додаванням ліпополісахариду до поживного середовища, показано позитивний вплив мікрополяризації та прогеніторних стовбурових клітин. Встановлено, що мультипотентні мезенхімальні стромальні стовбурові клітини здійснюють свій

нейропротекторний вплив (наприклад, зменшення реактивного гліюзу) паракринним шляхом.

За даними К.В. Яценко, транскраніальна мікрополяризація значно поліпшує кровообіг у різних компартментах судинної системи дітей з ДЦП, що забезпечує кровопостачання мозку, а також позитивно впливає на збудливість моторних нейронів за спастичної симптоматики. Ці висновки об'єктивізовані даними електронейроміографії та електроенцефалографії.

Сукупність наведених результатів дозволяє характеризувати їх як такі, що є новими.

Теоретичне та практичне значення результатів дослідження. Результати експериментальних і клінічних досліджень і висновки дисертаційної роботи К.В. Яценко створюють патогенетичний і морфологічний портрет перивентрикулярної лейкомаляції. Робота демонструє, як патофізіологічне дослідження трансформується у практичні рекомендації та їх клінічну реалізацію. Вона є ще одним аргументом на користь клінічної патофізіології, тобто вивчення закономірностей виникнення і розвитку хвороби на клінічному матеріалі.

Структура і зміст дисертації. Дисертаційна робота К.В. Яценко побудована згідно вимог МОН України, викладена українською мовою на 333 сторінках (основний текст – 265 сторінок). Дисертаційна робота ілюстрована 48 рисунками і 25 таблицями.

Структура роботи традиційно складається з анотації, вступу, 8 розділів – аналітичного огляду літературних джерел, методичного розділу, викладення даних власних досліджень, обговорення результатів, 8 узагальнюючих висновків, списку використаних джерел у кількості 325. Слід відзначити високу якість і наочність ілюстративного матеріалу.

У **вступній частині** дисертації обґрунтовано актуальність теми, мету і задачі дослідження, визначено наукову новизну, практичне значення отриманих результатів та особистий внесок здобувача в представлені розробки. Ці питання

висвітлені стисло і чітко, що полегшує розуміння задуму роботи, шляхів розв'язання проблеми і основні результати.

Огляд літератури викладено на 53 сторінках і базується на публікаціях, більшість з яких побачила світ в останні роки в авторитетних виданнях. Матеріал викладено досить повно, послідовно і критично. В огляді літератури розглянуті сучасні дані наукової літератури щодо причин формування органічних уражень головного мозку та їх наслідків. К. В. Яценко слушно вважає, що однією з важливих ланок патогенезу органічних уражень головного мозку новонароджених є перивентрикулярна лейкомаляція. В окремому підрозділі детально описана перивентрикулярна лейкомаляція та методи нейровізуалізації її різних форм (кістозна, некістозна). Зміни в перивентрикулярній зоні призводять до деструкції нервової тканини і лейкомаляції з незворотними наслідками, які можуть переростати в більш важку патологію - дитячий церебральний параліч, перинатальну гіпоксично-ішемічну енцефалопатію, епілепсію та інші. Тому в наступних підрозділах детально описані ці три патології. Огляд літературних даних завершує підрозділ, в якому висвітлені існуючі методи корекції функціонального стану ЦНС дитини при органічних ураженнях головного мозку. Підсумовуючи огляд літератури, авторка виділяє основні проблеми, від вирішення яких залежить прогрес в цій галузі. Усі ці відомості з наукових вітчизняних і закордонних публікацій дисертанткою ретельно проаналізовані, вибудовані в логічній послідовності і переконують у доцільності її подальших власних досліджень.

У **другому** розділі авторка докладно описує матеріали та методи досліджень. Для досягнення мети цієї дисертаційної роботи К. В. Яценко використала такі методи: моделювання перивентрикулярної лейкомаляції *in vivo* та *in vitro*, імуноцитохімія та гістохімія на світловому та електронно-мікроскопічному рівнях, біохімічні методи, транскраніальна мікрополяризація, електроенцефалографія, електронейроміографія, транскраніальна доплерографія

судин мозку, клініко-неврологічні, статистичні методи. Усі ці методи свідчать про високий науково-методичний рівень виконаних досліджень.

З **розділу 3** дисертантка розпочинає викладення результатів власних досліджень. У цьому розділі К. В. Яценко досліджує клітинні механізми гіпоксично-ішемічного ушкодження головного мозку на *in vivo* та *in vitro* моделях перивентрикулярної лейкомаляції. Було показано, що перивентрикулярна лейкомаляція призводить до деградації основного білка мієліну і, відповідно, олігодендроцитів, та нейрозапалення – активації астроцитів і мікрогліальних клітин. Варто зазначити, що *in vitro* модель перивентрикулярної лейкомаляції була створена вперше і детально охарактеризована. Цю модель можна використовувати задля дослідження патогенетичних механізмів розвитку перивентрикулярної лейкомаляції, а також шляхів нейропротекції головного мозку, зокрема фармакологічних агентів та трансплантації стовбурових клітин.

Тому, проаналізувавши клітинні механізми розвитку перивентрикулярної лейкомаляції, дисертантка у **розділі 4** вирішила дослідити дію мікрополяризації на нервові клітини в дисоційованій культурі гіпокампа в умовах змодельованого нейрозапалення. Перевагами такого підходу є можливість спостереження за змінами морфологічних і функціональних характеристик саме у нервових клітинах при безпосередній дії мікрополяризації. Такі властивості дисоційованої культури особливо цінні для вивчення механізмів дії тих чи інших чинників та виявлення їх нейропротекторного потенціалу. Отримані К. В. Яценко дані розширюють уявлення про нейропротекторні механізми, які задіяні під час дії мікрополяризації на нервову тканину. Активація нейритогенезу може підвищити здатність нервових клітин до відновлення під час дії негативних факторів, зокрема, нейрозапалення. Усе це вказує на широкі перспективи використання мікрополяризації як ефективного терапевтичного засобу при органічних ураженнях головного мозку.

Продемонструвавши позитивний вплив мікрополяризації на нервову тканину на *in vitro* моделі нейрозапалення, дисертантка у **розділі 5** досліджує

вплив комплексного лікування з застосуванням мікрополяризації на морфофункціональний стан ЦНС дитини при органічних ураженнях головного мозку, зокрема при ДЦП. К. В. Яценко показала, що включення транскраніальної мікрополяризації до лікувально-реабілітаційного комплексу хворих на ДЦП забезпечує позитивну динаміку показників транскраніальної доплерографії судин голови, електронейроміографії та електроенцефалографії.

Розділ 6 присвячений аналізу електроенцефалографічних даних та показників мозкової гемодинаміки у пацієнтів із симптоматичною епілепсією після курсу транскраніальної мікрополяризації. К. В. Яценко показала, що застосування транскраніальної мікрополяризації у дітей з симптоматичною епілепсією сприяло покращенню електроенцефалографічної картини. Дисертантка зазначає, що транскраніальна мікрополяризація може стати перспективним методом у комплексному лікуванні хворих із симптоматичною епілепсією.

У **розділі 7** К. В. Яценко вивчала ефективність застосування транскраніальної мікрополяризації у комплексному лікуванні дітей з перинатальною гіпоксично-ішемічною енцефалопатією і продемонструвала позитивну динаміку показників транскраніальної доплерографії судин голови та покращення електроенцефалографічної картини у таких пацієнтів.

Підбиваючи підсумки своєї дисертаційної роботи, К. В. Яценко справедливо відзначає, що однією з важливих ланок патогенезу органічних уражень головного мозку новонароджених є перивентрикулярна лейкомаляція. На *in vivo* та *in vitro* моделях перивентрикулярної лейкомаляції дисертантка дослідила клітинні механізми та показала, що ця патологія призводить до ушкодження мієлінової оболонки нервових волокон (деградації основного білка мієліну), утворення олігодендроцитів, та нейрозапалення – активації астроцитів і мікрогліальних клітин. Ці незворотні наслідки можуть переростати в більш важку патологію - ДЦП, гіпоксично-ішемічну енцефалопатію, епілепсію та ін.

Спираючись на результати проведеного дослідження, К. В. Яценко пропонує кілька механізмів дії мікрополяризації на морфо-функціональний стан ЦНС дитини при органічних ураженнях головного мозку: зменшення реактивного гліозу; підвищення нейритогенезу та щільності синаптоподібних структур; покращення мозкової гемодинаміки; поліпшення стану нейром'язового апарату; покращення функціонального стану головного мозку.

Таким чином, К. В. Яценко успішно вирішила завдання дисертаційної роботи і отримала нові наукові результати. Вони детально і кваліфіковано проаналізовані в **розділі 8** дисертаційної роботи і завершуються обґрунтованими висновками.

Всім **висновків** дисертації відповідають поставленій меті і завданням наукового дослідження. Вони чітко сформульовані, аргументовані, спираються на отриманий особисто здобувачем фактичний матеріал і його власну узагальнену оцінку результатів.

Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації.

Принципових зауважень до змісту й оформлення дисертації, які могли б вплинути на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи, немає. Однак виявлено деякі недоліки.

Зустрічаються невдалі вирази, наприклад, «перинатальна ЦНС».

У методичному розділі написано, що ліпополісахарид є основним чинником запалення. Звісно, це стосується лише експериментальної моделі, з якою працювала К.В. Яценко, але складається враження, що йдеться взагалі про типовий патологічний процес запалення.

Органічні ураження мозку є надзвичайно різноманітними і не обмежуються перивентрикулярною лейкомаляцією, як, наприклад, при черепно-мозковій травмі. Отже, назва роботи могла бути більш конкретною.

Деякі рисунки занадто великі, краще було б їх розділити на дві чи три панелі.

Запитання до здобувача:

1. Який, на Вашу думку, основний біохімічний, біофізичний або молекулярний механізм впливу мікрополяризації на метаболічні процеси і нейритогенез у нервовій тканині, і чи не є певний ризик змін метаболізму у небажаному для збереження здоров'я напрямку?
2. Ви пишете, що за допомогою додавання ліпополісахариду до середовища культивування гіпокампальних нейронів і гліальних клітин моделювали нейрозапальний процес. Відомо, що індуковане ЛПС в цілісному організмі системне запалення реалізується через стимуляцію фагоцитів, утворення інтерлейкіну-1, фактору некрозу пухлин та інших медіаторів запалення, тощо. Виникає питання, що саме маєте на увазі, коли пишете про запальний процес у клітинній культурі?
3. Ви слушно вважаєте, що механізм захисного ефекту мезенхімальних стромальних клітин при перивентрикулярній лейкомаляції полягає у стимулюючих речовинах, які ці клітини виділяють в оточуюче середовище. Чи можете Ви конкретизувати ці речовини, якщо не за власними, то за даними наукової літератури?
4. Що відомо з даних літератури або Ваши власних спостережень про глибинні механізми позитивного впливу мікрополяризації на церебральну гемодинаміку?

Загальний висновок

Дисертація Катерини Валентинівни Яценко «Механізми органічного ураження головного мозку і методи їх корекції», представлена до офіційного захисту в спеціалізовану вчену раду Д 26.198.01 при Інституті фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія, є ґрунтовним завершеним науковим дослідженням. Вона відповідає спеціальності

«патологічна фізіологія», вирішує актуальну проблему патогенезу перивентрикулярної лейкомаляції та обґрунтовує позитивний ефект мікроплярізації у комплексному лікуванні даної патології. За актуальністю, теоретичним і практичним значенням, науковою новизною, науково-методичним рівнем робота відповідає сучасним вимогам щодо докторських дисертацій, викладеним у п. 10 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженому постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24 липня 2013 р. (із змінами та доповненнями). Яценко Катерина Валентинівна безперечно заслуговує на присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія.

Офіційний опонент

доктор медичних наук, професор,
член-кореспондент НАН України, академік НАМН України,
Заслужений діяч науки і техніки України,
завідувач відділу ендокринології репродукції та адаптації
ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин
ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

12.10.2020 р.



Резніков О.Г.

Державна установа
ІНСТИТУТ ЕНДОКРИНОЛОГІЇ ТА ОБМІНУ РЕЧОВИН
ІМ. В.П. КОМІСАРЕНКА НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ
МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ
паспортний підпис Резніков О.Г. ЗАСВІДЧУЮ
прим. інспектор з кадрів Гет
12.10.2020 р.