

В І Д Г У К

офіційного опонента професора, доктора медичних наук

Досенка Віктора Євгеновича на дисертаційну роботу

КРАСНЯКОВОЇ МАРГАРИТИ ЄВГЕНІВНИ

на тему: “Роль больової сигналізації поперекового відділу

**спинного мозку щурів”, представлену до захисту в разову раду ВНМУ
ім. М.І. Пирогова ДФ 05.600.075, що утворена згідно наказу виконуючої**

**обов’язки ректора ЗВО Вінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова № 65 від 28 квітня 2023 року на підставі**

рішення Вченої ради ВНМУ ім. М.І. Пирогова № 7 від 27 квітня 2023

року з правом прийняття до розгляду та проведення разового захисту

дисертації на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22

«Охорона здоров’я» за спеціальністю 222 «Медицина».

1. *Ступінь актуальності обраної теми.* Проблема ефективної терапії болю різної етіології залишається вкрай важливою і актуальною. Згідно до міжнародного діагностичного інтерв’ю CIDI 2,0, 60.4% опитаних людей в Україні колись відчували хронічний біль. Очевидною є потреба в більш ефективних анальгетиках для купування цього соціально-значимого стану. В структурі хронічного болю від 20 до 25% займає нейропатичний біль, що протікає із залученням соматосенсорної системи і може бути вторинним по відношенню до уражень ЦНС. Доступні методи лікування нейропатичного болю також є обмеженими саме через неповне розуміння клітинних і молекулярних механізмів, що лежать в його основі. Саме тому тема дисертаційної роботи є надзвичайно актуальною, розширює розуміння патологічних механізмів, що опосередковують виникнення та підтримання болю. Дослідження клітинних і молекулярних механізмів больової сигналізації може визначити мішені для розробки нових методів лікування.

2. *Оцінка наукового рівня дисертації і наукових публікацій здобувача.* Робота є завершеним науковим дослідженням. Назва дисертації

відповідає її змісту. Основні наукові положення, висновки та практичні рекомендації, що містяться в дисертації, науково обґрунтовані, базуються на фактичних даних, є логічним підсумком отриманих результатів досліджень. Отримані результати дослідження доповнюють напрацювання інших авторів із обраної теми і опубліковані у дев'яти фахових виданнях. Три статті опубліковані у міжнародних наукових журналах (усі входять до першого квартилю (Q1) відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank.

3. Новизна представлених теоретичних та/або експериментальних результатів проведених здобувачем досліджень, повнота викладу в опублікованих працях. Аналіз міжнародної літератури показав, що відповідальними за ноцицепцію є спинномозково-парабрахіальні нейрони, які залишаються фрагментарно вивченими. Недостатньо досліджені питання нейрональних взаємодій і організація шляхів їх регуляції, а також організація нейронів у пластинці X і їх шляхи взаємодії і регуляції. Незважаючи на нещодавні досягнення в розумінні фізіології спинномозкових-парабрахіальних нейронів I пластинки заднього рогу, доступно доволі мало інформації про зміни їх функціонування, що спричинені нейропатією, хоча дослідження зміни функціонування нейронної мережі пластини I в моделі хронічного болю може прояснити основні механізми невропатичного болю.

Ціла низка результатів і висновків, які з них слідують були отримані вперше і мають високий ступінь наукової новизни.

Результати дисертаційного дослідження опубліковані в реферованих журналах, також були представлені у вигляді доповідей на фахових наукових конференціях в Україні, Німеччині, США, Польщі, Словаччині. Публікації повністю перекривають і вирішують завдання, що були поставлені в дисертаційному дослідженні.

Таким чином, дисертаційне дослідження Краснякової Маргарити виконане на високому науково-методичному і методологічному рівнях.

Результати і положення дисертації, які виносяться на захист відповідають всім вимогам положення на здобуття наукового ступеню доктора філософії, є обґрунтованими та логічними, мають високий ступінь наукової новизни та практичне значення.

4. Наукова обґрунтованість отриманих результатів, наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Одержані під час виконання дисертаційної роботи результати мають істотне значення для сучасної науки і медицини, результати були опубліковані в рецензованих журналах високого рівня, де чітко визначений вклад здобувачки. Так, разом з колегами, вона приймала активну участь у розробці основної наукової ідеї і розробці дизайні дослідження, самостійно здійснювала аналіз літератури відповідно до теми публікацій і дисертації, моделювання на тваринах хронічного больового синдрому і поведінкові тести, самостійно здійснювали усі хірургічні етапи експериментів. Разом зі співавторами були сплановані та розроблені експериментальні протоколи, запис збуджувальних та гальмівних синаптичних струмів, аналіз кількісних результатів електрофізіологічних експериментів та оформлення публікацій.

Висновки викладені чітко і відповідають меті і завданням, що були поставлені у дослідженні. Рекомендації були прийняті до використання у науковій роботі кафедр вищих навчальних медичних закладів України.

5. Рівень виконання поставленого наукового завдання, оволодіння здобувачем методологією наукової діяльності. У рукописі пані Маргарита проводить ретельний аналіз результатів власної роботи і дає вичерпне уявлення про методологічні підходи, характер і результати проведеного дослідження. У відповідності до завдань дослідження дисертантом було використано сучасні експериментальні методики:

- змодельовано хронічний нейропатичний біль у щурів і проведені поведінкові тести для оцінки механічної больової чутливості з

використанням філаментів фон Фрея і поведінковий тест Харгівса для оцінки термічної больової чутливості.

- методика отримання ex-vivo препарату спинного мозку для дослідження I і X пластинок
- методика селективного маркування спинномозково-парабрахіальних нейронів дорсального мозку щурів
- використання бічного світлодіодного освітлення для візуалізації клітин інтактного ex-vivo препарату спинного мозку
- «patch-clamp» методика для реєстрації іонних струмів від нейронів I та X пластинок з стимуляцією дорсальних корінців спинного мозку.

У розділі «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» дисертантка проводить ретельний аналіз результатів власної роботи і дає вичерпне уявлення про методологічні підходи, характер і результати проведеного дослідження, що свідчить про високий рівень володіння здобувачем методологією наукової діяльності для виконання поставленого наукового завдання.

6. Теоретичне і практичне значення результатів дослідження.

Було виявлено функціональну схожість I і X пластинок спинного мозку. Специфічний вплив як на сегментарну, так і на пре- і постсинаптичну низхідну регуляцію може бути стати потенційною ланкою для впливу і менеджменту хронічних больових синдромів.

7. Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому.

У «Вступі» дисертації автор переконливо доводить актуальність теми, завдання роботи та її зв'язок з науковими програмами, визначені конкретні задачі дослідження, дана характеристика об'єкту та предмету дослідження. Представлені відомості про наукову новизну роботи, практичне значення,

апробацію матеріалів дисертації на наукових та науково-практичних конференціях, впровадження їх в практику закладів охорони здоров'я тощо.

Огляд літератури побудований на аналізі великої кількості сучасних джерел інформації (238 джерела) і свідчить про вміння дисертанта працювати з літературою, добре володіння ним методами аналізу та синтезу наукової інформації.

В розділі «Матеріали та методи дослідження» детально наведені методики і їх модифікації. Докладно описана розроблена в рамках дослідження система візуалізації нейронів у цілому препараті і система реєстрації електричної активності спинномозкових-парабрахіальних нейронів у відповідь на стимуляцію корінця поперекового відділу спинного мозку.

Основні результати проведеної дисертантом роботи знайшли своє відображення у 3, 4 та 5 розділах дисертації. Всі вказані розділи роботи закінчуються формулюванням резюме, які додатково підкреслюють важливість результатів досліджень.

Розділ 3 «Відмінності аферентних входів та кількості потенціалів дії згенерованих спинномозково-парабрахіальними нейронами пластинки I спинного мозку та їх відповідь на різні типи електричних стимулів» викладений на 11-ти сторінках тексту, містить 4 рисунки. Після аналізу електрофізіологічної даних автором встановлено, що спинномозково-парабрахіальні нейрони II-го типу, які складають собою лише 19% всієї популяції цих клітин, генерують 69% загальної вихідної потенціал дії-залежної активності і мають в 2,2 рази більше моносинаптичних входів.

В розділі 4 «Характерні зміни спинномозково-парабрахіальних нейронів у моделі хронічного нейропатичного болю» (7 сторінок) автор детально описує, що в умовах хронічного болю спинномозково-парабрахіальні нейрони I пластинки спинного мозку у відповідь на невольний А-стимул здатні генерувати значну кількість потенціалів дії. Це дає можливість припустити, що вони приймають роль у формуванні такого феномену, як алодинія. Також спинномозково-парабрахіальні нейрони в

умовах нейропатичного болю здатні генерувати більш тривале плато, та відповідно більшу кількість потенціалів дії у відповідь на С – стимул, що дає підставу говорити, що за рахунок даного механізму може реалізовуватись феномен гіпералгезії.

Розділ 5 «Функціональні характеристики нейронів пластинки Х спинного мозку і їх залученість у ноцицептивній передачі» викладений на 14 сторінках, 12 рисунків. Дисертантом проведено вивчення первинних аферентів і низхідних шляхів, що можуть викликати пресинаптичне гальмування аферентних вхідних сигналів. Стало відомим, що вхід первинних аферентів до нейронів пластинки Х регулюється кількома спинномозковими та супраспінальними шляхами. Основні низхідні тракти пресинаптично контролюють А δ - і С-аферентні входи до пластинки Х. Нейрони пластинки Х мають терміналі від ноцицептивних аферентів, які експресують ТРП канали. Отриманні данні свідчать про залученість пластинки Х у ноцицептивну сигналізацію.

У розділі «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» Маргарита Євгенівна проводить ретельний аналіз результатів власної роботи. Цей розділ дає вичерпне уявлення про методологічні підходи, характер і результати проведеного дослідження.

Основні результати роботи сформульовані автором у 5 висновках. Вони конкретні, містять відповіді на поставлені задачі дослідження, базуються на цифрових даних та засвідчують вражаючу функціональну схожість пластинки Х з основною ноцицептивно-проекційною пластинкою І дорсального рогу спинного мозку. Дають розуміння, що специфічний вплив як на сегментарну, так і на пре- і постсинаптичну низхідну регуляцію може бути стати потенційною ланкою для впливу і менеджменту хронічних больових синдромів.

8. Рекомендації щодо подальшого використання результатів дисертації в практиці. Практична цінність даної роботи полягає у

встановленні того факту, що низхідні волокна ГАМК/енкефалінергічних нейронів, від центру контролю болю в стовбурі головного мозку, є перспективними мішенями для гальмування процесів хронічного болю.

9. Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації, запитання до здобувача

Сукупно оцінюючи зміст дисертації, необхідно відзначити цілісність та завершеність роботи в цілому, отримані автором дані суттєво збагачують уявлення щодо фізіології та патофізіології болю і мають значний практичний потенціал.

Запитання до здобувача:

1. Чому було прийнято рішення в дизайні дослідження вивчати саме спинномозково-парабрахіальні нейрони передньолатерального шляху, а не, наприклад, спиноталамічних клітин в пластинці I, враховуючи передбачувану важливість цього шляху для сприйняття болю?

2. Як саме визначався вплив пресинаптичного гальмування на активність нейронів пластинки X?

3. Чи можуть спинномозково-парабрахіальні нейрони впливати на формування емоційного компонента болю?

4. Лікування невропатичного болю в перспективі є окремою задачею, чи варто концентрувати зусилля на лікуванні основного захворювання, яке і призвело до порушень больової сигналізації?

10. Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності.

Під час ознайомлення з матеріалами дисертації та аналізу наукових публікацій здобувача фактів академічного плагіату не виявлено. Тестування оригінальності авторського тексту дисертаційної роботи було проведено за допомогою сервісу Strike Plagiarism, було визначило високий рівень оригінальності – 96%. Наявності порушень академічної доброчесності в дисертаційному дослідженні не виявлено.

11. Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам. За основними змістовними ознаками, актуальністю, науковою новизною, обґрунтованістю основних положень, висновків і рекомендацій, теоретичним і практичним значенням, висвітленню результатів роботи у вітчизняних та закордонних періодичних наукових виданнях дисертаційна робота Краснякової Маргарити на тему: “Роль больової сигналізації поперекового відділу спинного мозку щурів” відповідає вимогам Постанови Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. №44 «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», оформлена згідно наказу Міністерства освіти і науки України №40 від 12.01.2017 року та в повній мірі відповідає спеціальності 222 «Медицина» і заслуговує здобуття ступеня доктора філософії.

**Завідувач відділу загальної
та молекулярної патофізіології
Інституту фізіології**

**ім. О.О. Богомольця НАН України,
доктор медичних наук, професор**

Віктор ДОСЕНКО



ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ
НАН УКРАЇНИ
Віктора Досенка
Віктор Досенко