

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Краснякової Маргарити Євгенівни

«Роль больової сигналізації поперекового відділу спинного мозку щурів»,

подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22

«Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина»

Актуальність теми дисертації. Феномен болю — дивний своєю амбівалентністю: він, як і старіння та смерть, є *«нормальною аномалією»*, повсюдною аж до узвичаєності, і водночас, завжди нестерпною для будь-якого живого організму. Можна навіть сказати, що усе біологічне життя є перманентною втечею, протестом і війною проти цих трьох живоїдів — болю, старіння і смерті.

Так званий *«фізіологічний біль»* розглядають як швидку інтегральну психофізіологічну і поведінкову реакцію організму на шкідливий вплив зовнішнього чи внутрішнього середовища, маючи на увазі, що цей вид болю є одним із педагогів життя, оскільки формує межі безпечної поведінки організму.

Однак, є ще — хоч як це не парадоксально звучить — аномальний, або *«патологічний біль»*. Він відрізняється відсутністю чіткого зв'язку із первинним тригером, значною тривалістю і дезадаптивним впливом на носія. За деякими даними, таким болем страждає до 80 % населення Землі. Причому, у багатьох випадках він не лише погіршує якість життя, а й призводить до його активного вкорочення — суїциду чи евтаназії. Тому з'ясування патогенезу та лікування хронічного болю має істотну соціально-економічну вагу.

За такого філософського і медичного портфолію годі й казати, що біль має надзвичайно складні нейрофізіологічні кореляти. І дисертаційна робота, представлена нашій увазі, присвячена саме цій проблематиці — нейрофізіології та патофізіології болю. Отже, актуальність теми дослідження не викликає сумнівів.

Зв'язок теми дисертаційного дослідження з плановими науково-дослідними роботами. Як можна здогадатися, дисертація виконана на базі Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України в межах двох науково-дослідних робіт: *«Біофізичні та молекулярно-генетичні механізми регуляції фізіологічних та патологічних процесів» (2017–2021 рр.; 0116U004470)* та *«Функціональні характеристики нейронів спинного мозку та їх зміни при різноманітних патологіях та травмах» (2019–2023 рр.; 0118U007346)*.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Дисертація виконана із залученням експериментальних тварин (*молоді білі безпородні щури*), за допомогою відомих засобів експериментальної нейрохірургії — моделювання хірургічної травми сідничого нерва, поведінкових методів дослідження температурної і механічної екстероцепції, а також з використанням кількох видів клітинно-електрофізіологічного методу, методів прижиттєвої візуалізації нейронів і методів статистичного аналізу. Усі дослідження виконано на базі Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України з використанням метрологічно повірених засобів вимірювання. Для вирішення поставлених задач дисертанткою відтворено модель хірургічної травми сідничого нерва щура, досліджено особливості викликаної і спонтанної електричної активності проєкційних спинномозково-парабрахіальних нейронів у нормі та на тлі нейропатичного болю, а також сегментарну і супраспінальну регуляцію ноцицептивної аферентації нейронів Х пластинки сірої речовини спинного мозку. Результати отримано різноманітними засобами детекції та вимірювання трансмембранних електричних потенціалів і струмів на тлі кількох видів фізичної чи хімічної стимуляції. Первинні цифрові дані опрацьовано релевантними методами статистичного аналізу. **Загалом**, на наш погляд, перелік залучених здобувачкою дослідницьких методів та засобів обґрунтовує достовірність отриманих даних, достатньо аргументує сформульовані положення та висновки дисертації.

Наукова новизна отриманих даних і їх практичне значення. У дисертаційному дослідженні отримано ряд наукових результатів, що мають

фундаментальне і у перспективі — практичне значення. Зокрема, 1) описано профіль викликаної збудженням аферентів спинного мозку електричної активності трьох типів спинномозково-парабрахіальних нейронів, 2) досліджено зміни викликаних стимуляцією сегментарних аферентів відповідей спинномозково-парабрахіальних нейронів на тлі нейропатичного болю, 3) з'ясовано основні сегментарні і супраспінальні аференти нейронів пластинки X, а також виявлено можливі шляхи модуляції прямих впливів на ці нейрони ноцицептивних волокон Аδ/С. Усі ці результати, окрім явного фундаментального значення на даний час, у перспективі можуть бути використані для розробки нових методів лікування больових синдромів.

Впровадження основних результатів дисертації. Отримані результати і оптимізовані під час виконання методи дослідження впроваджено у ряді закладів вищої освіти, де вони можуть бути використані у навчальному і науковому процесі.

Повнота викладу основних положень дисертації в опублікованих наукових працях. Виходячи з представлених даних, перевірених уповноваженими особами установи, де виконувалась робота, за темою дисертації опубліковано 3 статті у фахових виданнях, включених до міжнародних наукометричних баз (*рейтинг Q1*). Крім того, за темою дисертації опубліковано 6 тезових праць. Загалом, наведені авторкою праці відображають висвітлені у дисертації дані; заходи щодо оприлюднення основних положень дисертації серед фахової спільноти вважаємо достатніми.

Загальна оцінка змісту та структури дисертації. Дисертація Краснякової М.Є. є завершеним і цілісним науковим дослідженням, містить типові структурні частини — анотацію, вступ, аналітичний огляд літератури, розділ, присвячений опису методології дослідження, три розділи з результатами власних досліджень, підсумково-інтерпретаційний розділ, висновки, список використаних джерел та 2 додатки. Об'єм дисертації складає 137 сторінок друкованого тексту. Основна частина містить 24 рисунки, список використаних джерел включає 238 найменувань. Зауваження. На наш погляд, формулювання теми дисертації

позбавлене конкретизації. У якості прийняттого можна було б використати такий варіант назви: *"Роль проєкційних і навколоцентральных нейронів сірої речовини спинного мозку у кодуванні і передачі ноцицептивної інформації за нормальних умов і на тлі нейропатичного болю"*.

У **анотації** автореса стисло формулює мету дослідження, викладає основні його результати, наводить перелік опублікованих за темою дисертації праць.

Зауваження. У цій частині наявне помилкове визначення алодинії і ряд інших невдалих формулювань та термінологічних вади. **Перелік ключових слів** варто було б тематично упорядкувати. А реквізити власних праць дисертанта слід було оформити бібліографічним стилем, аналогічним тому, котрий використано у переліку цитованих джерел¹.

У **Змісті** наявні помилки у назві розділів 2 і 3. У *«Переліку умовних позначень ...»* варто було англійські аббревіатури (AMPA, NMDA), крім українського перекладу, розшифрувати англійською. Аббревіатури ТПРА, ТРП і ТРПВ сформовано і розшифровано з помилками. Натомість, відсутні використовувані і не розкриті у дисертації аббревіатури, зміст яких можна зрозуміти лише контекстуально².

У **Вступі** автореса окреслює актуальність дослідження, формулює його мету, завдання, об'єкт і предмет, подає основні дані щодо місця виконання роботи, наводить перелік залучених дослідницьких засобів, описує особистий внесок, розкриває новизну і практичне значення отриманих результатів, наводить інформацію щодо їх оприлюднення і впровадження. **Зауваження.** Частина, присвячена демонстрації актуальності теми, містить дублювання інформації і стилістичні вади. Найчастішою причиною нейропатичного болю, мабуть, є не діабетична нейропатія, як зазначає авторка, а остеохондроз хребта³. Твердження *«Особливо цікавими у ролі терапевтичних мішеней для лікування болю є спинномозкові-парабрахіальні нейрони, оскільки ноцицептивні сигнали, що надходять з периферії, перед доставкою до центральних структур,*

¹ аналогічне зауваження стосується також і Додатку А.

² йдеться про наступні аббревіатури: ДК, ДЛК, КСТ, ПА, ПД, ПДК, ПК, СПН, ТРПМ і ЧПН.

³ https://en.wikipedia.org/wiki/Low_back_pain#Epidemiology.

обов'язково проходять спинномозкові-парабрахіальні нейрони на своєму шляху.»
— сумнівне, оскільки не стосується людини, адже у *Homo sapiens sapiens* першочергове значення у ноцицепції мають прямі спинно-мозково-таламічні проєкції.

Враховуючи заявлену галузь знань (22 «Охорона здоров'я»), **метою роботи**, на наш погляд, слід вважати визначення потенційних шляхів патогенетичного лікування нейропатичного болю, **об'єктом** — власне нейропатичний біль, а **предметом** — сукупність первинних результатів досліджень. У частині «**Методи дослідження**» слід було перерахувати основні використані методи без надмірної деталізації. Опис **наукової новизни** варто було подати рубриковано, причому так, щоб пункти новизни відповідали сформульованим завданням дослідження. Крім того, у викладі **наукової новизни** не слід описувати потенційну практичну значущість отриманих результатів, якій присвячена наступна частина («**Практичне значення отриманих результатів**»): у ній перший абзац — лишній, а другий варто замінити зазначеною частиною **наукової новизни**. У підрозділі «**Обсяг і структура дисертації**» один із структурних розділів названо помилково, не згадано наявність додатків.

У розділі «**Аналітичний огляд літератури**» увагу зосереджено на сегментарних механізмах ноцицепції та хронічного болю, хоча наведено також інформацію про епідеміологію цього захворювання і згадано супраспінальні ланки його патогенезу. **Зауваження.** Деякі твердження подано без посилання на джерело; наявні стилістичні вади, помилкові формулювання. Шкода також, що читачу не розповідають, чому основні досліджувані у роботі йонні канали отримали характерну для них назву⁴, не кажучи уже про необхідність смислового, а не транскрипційного-транслітераційного перекладу цього терміну (*див. далі*). Мабуть, розділ варто було б завершити висновками, які б обґрунтовували проведення експериментального дослідження.

Розділ 2 («**Матеріали і методи досліджень**») присвячений опису різноманітних протоколів дослідження і методів математико-статистичного

⁴ йдеться про канали тимчасового рецепторного потенціалу.

аналізу отриманих цифрових даних. **Зауваження.** Текст містить різноманітні стилістичні і редакційні вади. Розділ позбавлений лапідарної схеми дизайну експерименту, не містить інформації щодо середньої маси залучених експериментальних тварин, розмірів експериментальних груп і кількісних співвідношень їх статевих підгруп, а також облікової інформації щодо засідання біоетичної комісії, на якому надано дозвіл на проведення дослідження. Також, серед матеріалу розділу нам не вдалося знайти протокол стимуляції дорзолатерального канатика, кірково-спинномозкового шляху та переднього канатика спинного мозку під час дослідження входів на нейрони X пластинки.

У розділі 3 (*"Результати досліджень. Відмінності аферентних входів та кількості потенціалів дії згенерованих спинномозково-парабрахіальними нейронами пластинки і спинного мозку та їх відповідь на різні типи електричних стимулів"*) описано електрофізіологічні властивості виявлених у дослідженні трьох типів спинномозково-парабрахіальних нейронів, зокрема особливості їхніх, викликаних стимуляцією відповідних чутливих корінців спинного мозку, електричних відповідей. Наукова новизна і фундаментальна значущість цього стислого матеріалу незаперечна. **Зауваження.** Назва розділу потребує редагування і узгодження із заявленою у **Змісті** дисертації. Розділ містить стилістичні і орфографічні помилки. Резюме розділу сформовано механічно і не висвітлює усіх даних, викладених у ньому.

У розділі 4 (*"Характерні зміни спинномозково-парабрахіальних нейронів у моделі хронічного нейропатичного болю"*) наведено інформацію щодо активності спинномозково-парабрахіальних нейронів пластинки I, викликаній стимуляцією сегментарних аферентів спинного мозку на тлі нейропатичного больового синдрому. **Зауваження.** Сутнісними упущеннями цієї частини роботи є відсутність дослідження змін активності у окремих, описаних у попередньому розділі, типах спинномозково-парабрахіальних нейронів, а також відсутність співставлення інтенсивності больового синдрому, визначеної тестом *von Frey*, і особливостей викликаній електрофізіологічної активності досліджуваних нейронів. Розділ містить поодинокі редакційні вади.

У розділі 5 (*«Функціональні характеристики нейронів пластинки Х спинного мозку і їх залученість у ноцицептивній передачі»*) представлено результати дослідження основних сегментарних і супраспінальних входів на нейрони пластинки Х, виявлено можливий вплив на головний і прямий ноцицептивний, TRPV1-залежний вхід на ці нейрони, забезпечуваний волокнами Аδ/С. **Зауваження.** Недоліком цієї частини роботи є відсутність спроб класифікувати досліджувані нейрони пластинки Х, у гетерогенності популяції яких годі й сумніватися. Текст містить ряд нерозкритих абревіатур. У висновках до розділу не вказано субтип TRP-каналів, виявлених на ноцицептивних аферентах нейронів пластинки Х. Нарешті, з незрозумілих причин численні рисунки, розміщені на різних сторінках і розділені текстом розділу, позначені як підрисунки одного рисунка.

Розділ 6 (*«Аналіз і узагальнення результатів дослідження»*) присвячений обговоренню й інтерпретації отриманих результатів, співвіднесенню їх з існуючими даними, формулюванню гіпотез щодо фізіологічної та патофізіологічної ролі досліджених у роботі нейронів спинного мозку. **Зауваження.** Містить стилістичні і редакційні вади, твердження без точних посилань на джерело і надміру амбітні заключення. З думкою, що парабрахіально-спинномозкові нейрони *«можуть також брати участь у кодуванні висхідних сигналів, описуючи емоційні та дискримінаційні аспекти болю»*, неможливо погодитись, оскільки емоційні кореляти та дискримінаційні властивості больового відчуття виникають виключно завдяки супраспінальним структурам, хоча і на підставі спінальних входів. Заявляючи, що *«... ці нейрони можуть представляти адекватну мішень для терапії болю без побічного впливу на інші сенсорні модальності»*, авторка не згадує відому, ефективну і широко використовувану хірургічну методику лікування хронічного болю, яка і полягає у спеціальному руйнуванні нейронів поверхневих пластинок заднього рогу — DREZ-томію. Нарешті, обговорюючи можливу функцію нейронів пластинки Х, авторка не згадує про популяцію ліквороконтактуювальних клітин.

«**Висновки**» сформульовані загально вдало. Відмітимо, що на тлі наявного у дисертації матеріалу **завдання 3** після ознайомлення з **Висновками**, видається сформульованим надто загально. На жаль, фраза «менеджмент хронічних больових синдромів» — фактично, неадаптований переклад англійського терміну «*chronic pain management*» (лікування хронічного болю) — увійшла і у підсумкове речення дисертації.

Список використаної літератури включає 237 англomовних і 1 кириличне найменування, з яких близько 11 % — бібліографічні реквізити за період 2019–2023 рр. включно. **Зауваження.** З трьох основних публікацій за темою дисертації у загальному списку використаної літератури замість третьої помилково одна з інших двох наведена двічі. Джерело під номером 165 оформлено неналежним чином.

Загальні зауваження.

1. Модельований у роботі патологічний стан неможливо зарахувати до категорії хронічного болю, оскільки тривалість його розвитку, згідно з даними авторки, складає усього 7-10 діб, а за неодноразово цитованими нею ж даними, для хронічного болю такий показник значно більший.
2. На наш погляд, у роботі слід було повніше розкрити практичну значущість отриманих даних: і шляхом пояснення ефективності уже відомих методів лікування хронічного болю (DREZ-томія), і шляхом конкретизації точок прикладання майбутніх фармакологічних засобів лікування нейропатичного болю.
3. Робота містить численні термінологічні вади, уникнути яких можливо, у тому числі, використовуючи вітчизняну анатомічну термінологію⁵.
4. На жаль, типовою для такого роду робіт є необґрунтована екстраполяція психоемоційної складової больового відчуття людини на тварин.

⁵ Черкасов ВГ, Бобрик П, Гумінський ЮЙ, Ковальчук ОІ. Міжнародна анатомічна термінологія (латинські, українські, російські та англійські еквіваленти). За ред. Черкасова ВГ. Вінниця : Нова Книга. 2010. 392 с.

У цілому ж, не зважаючи на низку стилістичних і редакційних упущень, дисертація є змістовним науковим дослідженням з яскравими ознаками полідисциплінарності, наукової новизни, висновки якого не викликають принципових зауважень.

Питання до здобувачки.

1. Чому Ви не використовували загальне знеболення тварин перед їх умертвінням для отримання прижиттєвих препаратів спинного мозку?
2. Що дає Вам підстави вважати, що стимульовані Вами волокна задньосерединної (*дорзо-медіальної*) частини білої речовини спинного мозку є волокнами виключно кірково-спинномозкового шляху?
3. Що Ви можете сказати про морфологічні особливості виявлених Вами трьох типів спинномозково-парабрахіальних нейронів?
4. Яка можлива роль ліквороконтактувальних нейронів у функції ноцицептивної системи, враховуючи, що вони можуть відноситися до або синапсувати з досліджуваними Вами нейронами X пластинки?
5. Чи не вдалося Вам прослідкувати сегментарні колатералі спинномозково-парабрахіальних нейронів?

ВИСНОВОК. Дисертаційна робота Краснякової М.Є. *«Роль больової сигналізації поперекового відділу спинного мозку щурів»*, подана на здобуття наукового ступеню доктора філософії з галузі знань 22 *«Охорона здоров'я»* за спеціальністю 222 *«Медицина»*, є самостійною завершеною працею, у якій на підставі експериментального дослідження представлено теоретичне узагальнення та новий підхід до вирішення актуальної проблеми патофізіології — розкриття механізмів ноцицепції та патогенезу нейропатичного болю.

Відповідність дисертації вимогам Порядку присудження наукових ступенів.

За актуальністю теми, науковою новизною, рівнем використаних дослідницьких засобів і потенційною практичною значущістю дисертаційна робота відповідає зазначеній спеціальності, чинним вимогам щодо дисертацій, викладених у

"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 (№44 від 12 січня 2022 р.), а її авторка, Краснякова М.Є. заслуговує присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина».

Професор кафедри нейрохірургії
Національного медичного
університету імені О.О. Богомольця,
доктор медичних наук, професор

Володимир МЕДВЕДЄВ