

ВІДГУК

**офіційного опонента завідувачки кафедрою неврології, психіатрії та фізичної реабілітації
Приватного вищого навчального закладу
«Київський медичний університет»,
д.мед.н., старшого дослідника Копчак Оксани Олегівни
на дисертаційну роботу Костенка В.В. «Особливості диференціальної діагностики, перебігу та визначення важливості немоторних симптомів при хворобі рухового нейрона» представлену на здобуття наукового ступеня
доктора філософії
в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина»
в разовій спеціалізованій вченій раді у Національному університеті
охорони здоров'я ім. П.Л. Шупика МОЗ України**

1. Актуальність теми дисертації

Хвороба мотонейрона є актуальною медико-соціальною проблемою, зважаючи на високі показники поширеності, інвалідизації та смертності. Середній вік початку захворювання припадає на 50-65 років, лише 5 % усіх випадків БАС починаються в осіб віком до 30 років. Не зважаючи на відносно невисоку поширеність даного захворювання, хворобі рухового нейрона (ХРН) притаманне неухильне прогресування та, на жаль, фатальне завершення. Для бокового аміотрофічного склерозу (БАС), як і для багатьох нейродегенеративних захворювань, патологічний процес не обмежується лише ураженням центрального та периферичного мотонейронів. Натомість, відбувається поширення захворювання та залучення інших немоторних областей мозку. При цих захворюваннях добре відомі відповідні немоторні симптоми (НМС), що охоплюють нервово-психічну, вегетативну, шлунково-кишкову та судинну системи і вражають від 5% до 80% людей з БАС.

Лікування таких НМС є фундаментальними елементами сучасної та комплексної медичної допомоги пацієнтам, які страждають від нейродегенеративних захворювань. Немоторні симптоми, що проявляються при

БАС, можуть викликати значний дистрес, погіршити прогноз і вплинути на виживання.

Отже, дисертаційна робота Костенка В.В., яка має за мету визначення структури і вираженості немоторних симптомів на ранніх стадіях хвороби рухового нейрона у пацієнтів з урахуванням гендерних чинників; виявлення та аналіз патологічних змін компонентів нейроваскулярної одиниці в центральній нервовій системі у пацієнтів з хворобою рухового нейрона, є актуальною, вчасною та перспективною для науки та практичної медицини.

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

Дисертаційна робота Костенка В.В. не є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри неврології № 1 НУОЗ України імені П. Л. Шупика, має власний державний реєстраційний номер НДР 0117U006527, код за ЄДРПОУ 01896702.

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

Дисертаційна робота має концепцію, для обґрунтування якої автором розроблений чіткий, логічний дизайн, побудований на основі доказової медицини (матеріал, принцип формування груп, методи та аналіз результатів дослідження). Автором було обстежено 52 хворих на ХРН (22 жінки та 30 чоловіків, вік у середньому становив $(56,7 \pm 11,3)$ року, які утворили основну групу. До контрольної групи залучено 44 особи (15 жінок і 29 чоловіків) без нейродегенеративних захворювань (вік у середньому — $(59,7 \pm 12,4)$ року. Обидві групи були порівнянні за співвідношенням статей та віком. Дисертант проводив обстеження хворих із застосуванням адекватних сучасних методів дослідження: неврологічного комплексного обстеження з використанням формалізованих шкал: шкала немоторних симптомів (ШНС), візуально-аналогова шкала (ВАШ), розширена шкала оцінки функціонування хворих на ХРН (ALSFRS-R) — для аналізу тяжкості моторних симптомів та моніторингу прогресування хвороби, інструментальні діагностичні методи, такі як електронеуроміографія та магнітно-

резонансна томографія спинного і головного мозку для диференціальної діагностики з іншими нервово м'язовими розладами). З метою посмертного патоморфологічного вивчення тканин використовували метод фарбування вільно плаваючих зрізів авідин-біотінового комплексу (АБК) з різними первинними антитілами.

Статистичний аналіз проводився за допомогою сучасних парметричних та непараметричних методів статистичної обробки даних з використанням програмного забезпечення GraphPad Prism 8 for Windows (GraphPad Software, San Diego, США) та автоматизованої системи ImageJ (1.47v, Java 1.6.0). Все вище зазначене дозволило автору досягти мети дослідження та повністю вирішити поставлені в роботі задачі. Кожне нове положення знайшло логічне, наукове обґрунтування, на підставі якого створені практичні рекомендації. Таким чином, достовірність даних дисертаційного дослідження підтверджена достатнім обсягом спостережень та використанням надійних сучасних методів статистичної обробки отриманих результатів.

4. Наукова новизна та теоретична значимість одержаних результатів

Рецензована дисертаційна робота містить достатній об'єм інноваційних результатів. Дисертантом отримані нові дані щодо структури, частоти, різноманітності та особливостей немоторних проявів ХРН в українській популяції в залежності від статі та інтенсивності больового синдрому, проаналізовано характер больових відчуттів за умови різних дебютів ХРН. Автором було вперше застосовано під час дослідження тканин пацієнтів з ХРН методику надшвидкого забору автопсійного матеріалу (6-7 годин після смерті пацієнта), з допомогою якої в автопсійному матеріалі первинної моторної кори (ПМК) осіб з ХРН виявлено певні морфологічні особливості та зміни, важливість яких потребує подальшого уточнення. Виявлені дисертантом в ході дослідження ознаки пошкодження гематоенцефалічного бар'єра різного ступеня інтенсивності у хворих з ХРН, а також ознаки дисфункції елементів нейроваскулярної одиниці, що уточнюють

патогенетичні механізми розвитку захворювання залежно від дебюту хвороби та генетичної гетерогенності процесів у мотонейронах і гліальних клітинах-сателітах.

Основні положення роботи доповідались та обговорювались на неврологічних конференціях з міжнародною участю: неврологічних читаннях – пам'яті Д.І. Панченка» (01.03.2018); «Шляхи вирішення актуальних проблем у сучасній неврології» (14.12.2018); «Разом задля покращення неврологічного та психічного здоров'я» (Запоріжжя, 03.05.2018); «Медицина 21 століття» (Харків, 2018); конференція Асоціації неврологів Києва (15.11.2018); 3-ій Міжнародній конференції «Advances in Neurology» (Київ, 11.04.2019); Міжнародній конференції «Генетична діагностика у клінічній практиці лікаря» (Медичний діагностичний інститут, MDI. Київ, 16.04.2019); науково-практичні конференції «Young Science 2.0» «Хвороба рухового нейрона та больовий синдром» (Київ, 19.02.2020); конференції молодих вчених «Young Science» (Київ, 20.11.2020)

5. Практичне значення та обсяги впровадження результатів дослідження

Внаслідок виконання даного наукового дослідження стає можливим покращення діагностики ХРН шляхом проведення рутинного генетичного дослідження як мінімум двох найпоширеніших мутацій *SOD1* та *C9orf72*. Застосування методики надшвидкого забору автопсійного матеріалу істотно поліпшило виявлення морфологічних особливостей зразків тканин головного мозку з ХРН. Автором наголошено на необхідності покращення діагностики немоторних симптомів ХРН, що сприятиме своєчасному виявленню та адекватному лікуванню цих проявів з метою поліпшення якості життя пацієнтів з ХРН.

Практична значимість роботи підтверджується впровадженням результатів дисертаційного дослідження в клінічну практику в неврологічному відділенні КНП БРР «Богуславської ЦРЛ», а також в освітній процес кафедри неврології № 1 НУОЗ України імені П.Л. Шупика.

6. Дані про відсутність текстових запозичень і порушень академічної доброчесності (академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації, фальсифікації).

Відповідно до результатів перевірки та аналізу матеріалів дисертації, встановлено, що Костенко В.В. дотримувався принципів академічної доброчесності, що підтверджено висновком експертної проблемної комісії за спеціальністю «Нервові хвороби 14.01.15» від 23.11.21 (протокол № 8). За результатами перевірки та аналізу матеріалів дисертації не було виявлено ознак академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації.

7. Повнота опублікування результатів дисертації

За матеріалами дисертації опубліковано 5 статей, з них 1 – одноосібно. 3 статті надруковано в провідних зарубіжних медичних спеціалізованих та рецензованих журналах, зареєстрованих в основних наукометричних базах, проіндексованих в Scopus, Google Scholar, Web of Science. Також 2 статті вийшло у фахових науково-практичних журналах України, рекомендованих МОН України. Тези п'яти доповідей автора опубліковано в збірниках матеріалів наукових форумів, медичних міжнародних конференцій, інтернет-конференцій. Основний внесок за обсягом у матеріали публікацій належить дисертанту. Костенко В.В. брав участь у статистичній обробці та аналізі одержаних результатів та підготовці публікацій до друку.

8. Особистий внесок здобувача в одержання наукових результатів, що виносяться на захист

Дисертантом спільно з науковим керівником була визначена тема дисертації, сформульована мета роботи, поставлені основні завдання, підібрані групи пацієнтів та методи дослідження, що потрібні для виконання поставлених задач. Автор особисто підібрав та проаналізував сучасну наукову літературу за темою дисертації. Дисертантом особисто проведено збір та аналіз лабораторних та інструментальних даних хворих із ХРН, забір та фіксацію зрізів головного і спинного мозку, виготовлення гістологічних препаратів, маркування спеціальними антитілами для вивчення і підрахунку мотонейронів і клітин нейроглії, виконано конфокальну лазерну мікроскопію, здійснено статистичну обробку отриманих даних,

дисертантом впроваджено результати досліджень в клінічну практику. Автором сумісно з науковим керівником сформульовані висновки та практичні рекомендації роботи.

9. Характеристика розділів та оцінка змісту дисертації

Матеріали дисертації викладено послідовно у формально-логічний спосіб з дотриманням наукового стилю викладення. Дисертаційна робота написана українською мовою на 131 сторінках друкованого тексту та складається з анотацій українською та англійською мовами, переліку публікацій здобувача, вступу, перелік умовних позначень, огляду літератури (1 розділ), матеріалів та методів дослідження, 3 –х розділів власних досліджень, до кожного розділу наведено список літературних джерел (загалом 152 посилання на першоджерела). Робота містить 7 таблиць, 25 рисунків та 2 додатка.

У **вступі** дисертаційної роботи чітко сформульовано мету та п'ять завдань відповідно до предмета та об'єкта дослідження, перераховано адекватно використані наукові методи, відображено наукову новизну і практичне значення отриманих результатів, а також наведено дані щодо структури, обсягу дисертації і зв'язку роботи з науковими програмами, висвітлено обсяг апробації результатів дисертаційного дослідження та значний особистий внесок здобувача.

У першому розділі **«Огляд літератури»** відображено обґрунтування вибору теми дослідження за результатами опрацювання вітчизняних і зарубіжних джерел в достатній кількості. Автором, на основі аналізу літературних джерел, окреслено актуальність проблеми, наведено сучасні погляди на етіологію, диференціальну діагностику, патогенез та перебіг хвороби рухового нейрона. Представлено опис характеристик фенотипів ХРН, наведено основні сучасні класифікації ХРН, що мають значення для клінічної практики. Дисертант особливу увагу приділив описанню критеріїв ЕНМГ-діагностики ХРН, що є надзвичайно важливим для адекватної диференційної діагностики ХРН (виявлення гострої денервації — позитивних гострих хвиль, потенціалів фібриляцій з амплітудою 50—150 мкВ,

присутність потенціалів рухової одиниці зі збільшеною кількістю фаз і тривалістю з нормальним або близьким до норми проведенням збудження по чутливим волокнам). Спираючись на сучасні дані літератури, автор обґрунтував доцільність проведення генетичного дослідження при ХРН, навів сучасні підходи до лікування, що зосереджені переважно на полегшенні симптомів для поліпшення якості життя хворих. База даних щодо ефективності симптоматичної терапії обмежена. Автором зазначено, що перспективним напрямом лікування ХРН є розроблення антитіл проти токсичних агрегатів TDP-43. Огляд літератури засвідчив достатній рівень обізнаності дисертанта із сучасним станом досліджуваної проблеми. Даний розділ показав добрий аналітичний потенціал дисертанта.

У другому розділі **«Матеріали та методи»** автором наголошено на дотриманні етичних норм при виконанні дисертаційного дослідження, особливо щодо інформованої згоди на трупне донорство головного і спинного мозку для наукових цілей, зауважено, що протокол дослідження був схвалений етичною наглядовою радою клініки. Дисертантом описано дизайн дослідження із зазначенням критеріїв включення та виключення. Детально вказана загальна клінічна характеристика хворих основної та контрольної груп. Представлено опитувальник на визначення немоторних проявів ХРН, що містить 31 запитання, розділений на 6 розділів: шлунково-кишкові порушення, розлади сечовипускання, нейропсихічні порушення, розлади сну, сенсорні порушення, інші немоторні симптоми. В роботі влучно застосовано розширену шкалу оцінки функціонування хворих на ХРН ALSFRS-R (Revised Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale). Автором для оцінки болю використано візуальну аналогову шкалу (ВАШ). Дисертантом детально описані методики імуногістохімічного дослідження біоптату тканин мозку, а також метод стереологічного підрахунку мотонейронів. Автором використані сучасні методи статистичної обробки отриманих даних з використанням програмного забезпечення GraphPad Prism 8 for Windows (GraphPad Software, San Diego, США) та автоматизована система ImageJ (1.47v, Java 1.6.0).

Чітке втілення протоколу дослідження дисертантом дозволило сформувати досліджувані групи достатньої чисельності та застосувати сучасні релевантні статистичні методики обробки даних для отримання достовірних результатів, тобто вирішити поставлені у роботі мету та завдання.

В третьому розділі **«Немоторні симптоми при хворобі рухового нейрона»**, що складається з 2-х підрозділів, дисертантом наведено детальну характеристику структури немоторних симптомів, характер, частоту та клінічне значення на ранніх стадіях бічного аміотрофічного склерозу, зв'язок вираженості немоторних виявів та статі. Автором при порівнянні основної та контрольної груп виявлено статистично значущу різницю щодо таких немоторних симптомів, як біль, втрата маси тіла, пітливість, падіння. При цьому, встановлено, що переважна кількість пацієнтів із ХРН відзначали гіпергідроз і втрату маси тіла до появи рухових порушень, тобто вже на доклінічній стадії. Також автором не виявлено впливу статі на вираженість немоторних симптомів. Під час аналізу вікових особливостей виявлено, що в пацієнтів контрольної групи, віком понад 60 років, удвічі рідше ніж у хворих, віком 60 років та менше, спостерігали випадки падіння і проблеми із сексуальним потягом, тоді як у контрольній групі такої різниці за віком не було. Пацієнти із ХРН достовірно статистично частіше мали такі симптоми, як біль, втрата ваги, пітливість, падіння, ніж особи без нейродегенеративних захворювань. Дисертант, спираючись на власний досвід, наголошує на важливості проведення тестування пацієнтів з ХРН за допомогою ШНС, що дасть змогу неврологам своєчасно виявляти немоторні порушення на ранніх стадіях цього складного для діагностики та терапії захворювання. Серед позитивних особливостей даного розділу слід відмітити наявність обґрунтування проведеної роботи та наявність резюме в кінці розділу, що узагальнює отримані автором результати .

У четвертому розділі **«Особливості больового синдрому при хворобі рухового нейрона»** здобувачем наведено місце больового синдрому та патогенетичні передумови його виникнення у пацієнтів з ХРН, описано

вираженість больових відчуттів, особливості (залежно від дебюту) та локалізацію больового синдрому на ранніх стадіях ХРН в українській популяції пацієнтів. Отримані дисертантом дані свідчать про високу частоту больового синдрому при ХРН, що не залежить від статі та віку пацієнтів, проте наявність болю корелює зі швидшим порівняно з хворими, які не страждають від болю, прогресуванням характерних моторних симптомів хвороби. Автор відмічає, що для хворих із ХРН були більш притаманні больові відчуття у верхніх і нижніх кінцівках та у поперековій ділянці, водночас зазначено, що пацієнти з бульбарним дебютом хвороби практично не мали больового синдрому. Також встановлено, що наявність і інтенсивність больового відчуття не залежали від тривалості захворювання. В кінці розділу, резюмуючи основні досягнення, дисертант наголошує на необхідності подальших досліджень з метою поглиблення знань щодо механізмів виникнення больового відчуття та його впливу на загальну якість життя пацієнтів із хворобою рухового нейрона, а також підкреслює важливість створення спеціального стандартизованого опитувальника, який допоможе у виявленні больового синдрому, лікування якого є важливим напрямом паліативної допомоги при ХРН. Знайдені результати є елементами наукової новизни представленої роботи, має місце чітке та виважене викладення матеріалу, розділ добре ілюстрований.

В 5 розділі **«Гістологічна картина патологічних змін компонентів нейроваскулярної одиниці при хворобі рухового нейрона»**, що складається з 7-ти підрозділів, дисертант наводить результати детального гістологічного дослідження патологічних змін нейроваскулярної одиниці при хворобі мотонейрона. Не дивлячись на відсутність в матеріалах і методах опису експериментальної частини роботи, автором в даному розділі наведено дані вивчення впливу відсутності рецептора CX3CR1 (Cx3cr1^{-/-}) на мотонейрони спинного мозку у трансгенної моделі миші (SOD1-G93A) при хворобі рухового нейрона. При цьому, дисертантом у трансгенних мишей як з наявністю з рецептора

(Cx3cr1^{+/+}, контрольна група), так і без нього (Cx3cr1^{-/-}) у передніх рогах поперекового відділу спинного мозку виявлено значний мікрогліоз (39 порівняно з 46 %). Спираючись на отримані дані, дисертант наголошує, що відсутність фракталкін/CX3CR1-сигналіngu сприяє не тільки активації мікроглії, але і її нейротоксичності. Отримані автором результати дослідження розширили уявлення щодо патогенезу ХРН, продемонстрували, що ХРН на клінічному і патогістологічному рівні є гетерогенним захворюванням, при якому пошкодження нейроваскулярної одиниці може бути однією з основних ланок патогенезу, що призводить до дегенерації рухового нейрона. Проведене дисертантом посмертне патоморфологічне вивчення тканин моторної кори дало змогу дисертанту встановити певні її патологічні властивості у пацієнтів з ХРН у вигляді зниження кількості NuR-позитивних нейронів, в усій моторній корі; відсутність демієлінізуючих уражень в первинній руховій корі; ознаки ураження ГЕБ; дифузний астрогліоз і фокальну дегенерацію астроцитів у білій речовині ПМК, наявність аномальних сфероїдоподібних астроцитів у сірій речовині ПМК специфічних для мутації *SOD1*; наявність в переважній більшості випадків ХРН (як з виявленими генетичними мутаціями, так без них) вираженого мікрогліозу; дисфункції елементів нейроваскулярної одиниці, насамперед мікросудин, астроцитів та полідендроцитів, що може бути однією з важливих ланок патогенезу ХРН, яка призводить до дегенерації рухового нейрона. Вивчення автопсійного матеріалу від пацієнтів з ХРН має свої обмеження, одним з яких є неможливість вивчити хворобу на ранніх стадіях патологічного процесу. Розділ написаний докладно, чітко з детальним аналізом отриманих результатів, що вказує на високий аналітичний потенціал дисертанта, глибину практичної та теоретичної підготовки.

Висновки у кількості 6 є обґрунтованими, цілком впливають із змісту роботи, відповідають поставленій меті та завданням дослідження, зроблені на основі фактичного матеріалу з урахуванням статистичної достовірності отриманих результатів, тому не викликають сумнівів.

10. Недоліки дисертації щодо змісту і оформлення:

Оцінюючи в цілому дисертаційну роботу Костенко В.В. як таку, що має високий науковий і практичний рівень, слід вказати на незначні зауваження:

- 1) в розділі 2 не описана експериментальна частина роботи на спинному мозку трансгенних мишей, при цьому результати цих досліджень наведено в розділі 5;
- 2) на наш погляд, у розділі 5 занадто багато підрозділів, на нашу думку не доцільно в підрозділі 5.5 виділяти окремі підрозділи слід було б з метою полегшення сприйняття інформації;
- 3) наявність окремих стилістичних та пунктуаційних помилок.

Однак, зазначені зауваження не впливають на високу оцінку дисертаційної роботи, не зменшують її наукової новизни і практичної значимості.

11. При рецензуванні дисертаційної роботи виникли певні запитання:

1. Чи проводили ви кореляції вираженості больового синдрому з психоемоційним станом пацієнтів, наявністю тривоги, депресії?
2. Чи проводили ви лікування больового синдрому обстеженим пацієнтам з ХРН, якщо так, то яке?
3. Підкажіть будь ласка можливість практичного застосування отриманих результатів щодо патологічних змін в гістологічній картині компонентів нейроваскулярної одиниці при ХРН?
4. Чи є в літературі дані щодо нових патогенетично спрямованих напрямків лікування ХРН з урахуванням новітніх знань щодо компонентів нейроваскулярної одиниці?

12. Відповідність дисертації встановленим вимогам

Висновок: дисертаційна робота Костенко В.В. «Особливості диференціальної діагностики, перебігу та визначення важливості немоторних симптомів при хворобі рухового нейрона» подана на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222

«Медицина», виконана при науковому керівництві д.мед.н., проф. Головченка Юрія Івановича є завершеною, кваліфікаційною і самостійно виконаною на сучасному науково-методичному рівні науково-дослідницькою працею.

За актуальністю теми, методичними підходами, обсягом досліджень, науковою новизною та практичним значенням отриманих результатів, обґрунтованістю та об'єктивністю висновків повністю відповідає вимогам пп. 6,7,8 Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженого постановами Кабінету Міністрів України від 12.01.2022 №44 та Наказу МОН України від 12.01.2017 № 40 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації», а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина», за вирішення актуального науково-прикладного завдання неврології – визначення структури і вираженості немоторних симптомів на ранніх стадіях хвороби рухового нейрона у пацієнтів з урахуванням гендерних чинників; виявлення та аналіз патологічних змін компонентів нейроваскулярної одиниці в центральній нервовій системі у пацієнтів з хворобою рухового нейрона з метою удосконалення діагностики та лікування ХРН, а відтак поліпшення якості життя таких пацієнтів.

Офіційний опонент:

Завідувач кафедри неврології,
психіатрії та фізичної реабілітації
ПВНЗ «Київський медичний університет»,
д.мед.н., старший дослідник



Копчак О.О.