

ВІДЗИВ ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

директора Науково-дослідного інституту експериментальної та клінічної медицини Національного медичного університету імені О.О.Богомольця, доктора медичних наук, професора **Натрус Лариси Валентинівни** на дисертаційну роботу **Копач Ольги Володимирівни** *«Клітинні та молекулярні спінальні механізми ноцицепції як мішені для корегування хронічних больових синдромів»*, що подана для захисту на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.13 – фізіологія людини і тварин

Біль вважається захисним механізмом. Усі вищі організми мають розвинуту сенсорну систему, яка сигналізує на потенційне ушкодження тканин чітким сигналом – відчуттям болю. Однак при патологічних станах після важкої травми тканини, при запальних або невротичних захворюваннях ця система набуває стан сенсibilізації, і біль може перерости в захворювання. Також, біль може виникнути від підвищеної чутливості первинних рецепторів, або в результаті порушення центральної ланки ноцицептивного сприйняття. На сьогодні основним механізмом, котрий опосередковує розвиток і підтримання хронічного болю, є так званий феномен центральної сенситизації – тобто підвищеної реакції ноцицептивних нейронів у ЦНС на їх нормальні або підпорогові аферентні вхідні стимули.

Одним із важливих механізмів вказаного феномену вважають зміну функціонування іонотропних глутаматних рецепторів АМРА-типу, які відіграють одну із ключових ролей у збуджувальній синаптичній передачі в ЦНС. Ці рецептори беруть участь у синаптичній передачі, а зміни в їх функціонуванні причинно пов'язані з численними невропатологіями центральної нервової системи (ЦНС).

Робота присвячена вивченню ролі та регуляції функціонування АМРА рецепторів у нейронах дорзального рогу (ДР) спинного мозку за наявності хронічних больових синдромів різного генезу, а саме периферичного запалення та травми спинного мозку, що є **актуальною проблемою** сучасної біології та медицини.

Метою роботи було з'ясування спінальних механізмів ноцицепції для подальшого пошуку та обґрунтування новітніх біотехнологічних підходів для корекції хронічних больових синдромів. У роботі було використано комплекс різноманітних **методів** для проведення експериментальних досліджень у галузі сучасної фізіології та біомедицини.

Проводилося на експериментальній моделі моделювання хронічного болю різного генезу, в тому числі нейропатії трійчастого лицевого нерва. Оцінка больових синдромів проводилася із використанням низки поведінкових тестів. Біофізичні підходи включали реєстрацію іонних струмів у режимі локальної фіксації мембранного потенціалу (patch-clamp) та флуоресцентне вимірювання внутрішньоклітинної концентрації іонів кальцію.

Методичною особливістю вважаю локальне введення тест-речовин в інтратекальний простір спинного мозку після хронічної імплантації катетеру у

поперековий відділ спинного мозку через атланта-окципітальну мембрану. У роботі були також використані молекулярно-біологічні методи, визначення рівня експресії білка у тканині, фармакологічні та математичні методи експериментальних досліджень.

Основною науковою новизною є низка нових аспектів у функціонуванні складного комплексу клітинних та молекулярних спінальних механізмів, що залучені у підтримання хронічного болю у нейронних мережах ДР спинного мозку. Виявлені порушення трафікінгу АМРА-рецепторів у нейронах ДР **вперше в світі** демонструють причинно-наслідкові зв'язки між порушеннями регуляції функціонування АМРА-рецепторів на клітинному рівні та розвитком і підтриманням хронічного болю в експериментальних тварин.

Дисертаційна робота є сукупністю наукових статей за науковою тематикою, оформлена відповідно до розділу II Вимог до оформлення дисертації, затверджених наказом Міністерства освіти і науки України 12 січня 2017 року №40. У такому разі розділами дисертації є публікації здобувача наукового ступеня, яких повинно бути не менше 10 у виданнях, віднесених до першого і другого квартилів (Q1 і Q2) відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank або Journal Citation Reports.

Дисертаційна робота Копач О.В. викладена у 14 статтях, опублікованих у таких виданнях (Q1 і Q2), що навіть перевищує зазначені критерії, та у 42 тезах фахових міжнародних конференцій та з'їздів.

Усі друковані праці, які надані для захисту, об'єднані в одне коло вирішення вказаної наукової проблеми, за висвітленням досягнень побудований і автореферат дисертації.

На початку дисертант розглядає молекулярні механізми регуляції динамічного обігу АМРА-рецепторів різного субодиничного складу за фізіологічних умов та при хронічному болю. Автор доводить, що тривале периферичне запалення супроводжується інтерналізацією GluR2-вмісних АМРА-рецепторів із синапсів між первинними аферентами та ноцицептивними нейронами дорзального рогу спинного мозку за участі NMDA-рецепторопосередкованої активації РКС. Фармакологічне інгібування та генетичне вимкнення експресії РКСа у поперековому відділі спинного мозку супроводжується корекцією порушеного обігу синаптичних АМРА-рецепторів між первинними аферентами і ноцицептивними нейронами дорзального рогу спинного мозку та полегшенням болю.

Потім розглядається функціонування та Ca^{2+} -провідність АМРА-рецепторів у нормі та при тривалому периферичному запаленні і наведені переконливі дані про зміну трафікінгу позасинаптичних АМРА-рецепторів у сенсорних нейронах дорзального рогу спинного мозку за вказаних умов.

Досліджений механізм формування екстрасинаптичних АМРА-рецепторів в нейронах спинного рогу спинного мозку, пов'язуючи ці рецептори з нейротрансмісією та несинаптичною сигналізацією в ЦНС. Ці знання потенційно підказують розробку альтернативних методів терапії для запобігання та/або лікування запального болю.

Група праць присвячена клітинноспецифічним змінам у балансі між синаптичним збудженням та гальмуванням у нейронних мережах спинного мозку, до яких приводить порушенню трафікінгу AMPA-рецепторів у нейронах дорзального рогу при тривалому периферичному запаленні, травмі спинного мозку, які клінічно проявляється у вигляді спастичності та хронічного болю.

Розглядається механізм виникнення больового синдрому при хворобі Фабрі як наслідок гіперзбудливості сенсорних нейронів, на тлі збільшення внутрішньоклітинного входу Ca^{2+} .

Кульмінацією роботи можна вважати сукупність досліджень, присвячених **розробці нових підходів для терапії** больових синдромів. Автор наводить експериментальні здобутки фармакологічної дії, застосування генної терапії і нанотехнологій. Як шлях введення терапевтичних сполук автор обрала хронічну імплантація катетеру у субарахноїдальний простір поперекового відділу спинного мозку через атлanto-окципітальну мембрану. Суттєвою практичною новизною роботи стало розроблений метод цільової доставки у поперековий відділ спинного мозку для таргетування нейронів ДР з метою терапії хронічного болю. Отримані дані демонструють терапевтичний ефект фармакологічного блокування Ca^{2+} - проникних AMPA-рецепторів інгібіторами нового покоління (активаційно-залежними блокаторами) на полегшення больового синдрому з мінімальними побічними ефектами. Також доведений терапевтичний ефект застосування генної терапії та наноінженерії у вигляді полімерних мікрокапсул для лікування хронічного болю і полімерних плівок для депонування та індукованого вивільнення біологічно активних сполук.

Таким чином, наведені експериментальні дослідження і отримані дані демонструють причинно-наслідкові зв'язки між порушеннями регуляції динамічного обігу AMPA-рецепторів у нейронах ДР спинного мозку та розвитком і підтриманням хронічного болю, а також науково обґрунтовують впровадження нових підходів у стратегію лікування хронічних больових синдромів із врахуванням ключової ролі центральних механізмів у підтриманні хронічного болю різного походження.

Оскільки дисертація складається із сукупності робіт, які були належним чином рецензовані та викладені у авторитетних виданнях, до текстової частини зауважень нема. **У процесі ознайомлення із матеріалами виникли запитання, які пропонуються для дискусії:**

1. Враховуючи високу пластичність AMPA-рецепторів і здібність переміщуватися між плазматичною мембраною та внутрішньоклітинними сайтами, що змінює їх кількість і загальну властивість нейронів, що, з вашої точки зору є основним координатором (коректором), якій запобігає розгалуженню системи глутаматного сигналінгу в мозку? та в цілому в ЦНС?
2. Оскільки описана пластичність притаманна усім AMPA рецепторам структур мозку (гіпокампу, мигдалику, таламусу тощо), то як це може відбиватися на властивостях їх нейронів, їх функціонуванні?
3. Як пропоновані терапевтичні підходи корекції обігу AMPA-рецепторів, які виявляли достатньо чітко селективний шлях впливу на ноцицепцію

впливають на інші властивості (неноцицептивні) нейронів ДР та інших структур мозку?

4. Як ви вважаєте, чи є перспективним використовувати вказані підходи фармакологічного блокування РКСа у нейронах ДР спинного мозку для купірування гострого болю, під час розвитку спинального шоку, під час анестезії для пологів тощо.
5. Які підходи дозування коригуючих засобів блокування АМРА-рецепторів необхідно враховувати, щоб не викликати повної анестезії і відсутності функціонування важливої ноцицептивної сигнальної системи, або незворотного стану аналгезії?

ВИСНОВОК

Дисертаційна робота Копач Ольги Володимирівни «Клітинні та молекулярні спінальні механізми ноцицепції як мішені для корегування хронічних больових синдромів», що подана для захисту на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.13 – фізіологія людини і тварин, є завершеною науково-дослідною працею, у якій представлені результати комплексного дослідження клітинних та молекулярних спінальних механізмів хронічного болю; ідентифіковано порушення динамічного обігу АМРА-рецепторів як центральний механізм, що опосередковує підтримання хронічного болю різного генезу, з'ясовано молекулярний механізм таких порушень та запропоновано нові підходи для полегшення хронічних больових синдромів із мінімальною кількістю побічних ефектів, які базуються на корекції виявлених порушень.

Докторська дисертація Копач Ольги Володимирівни на тему «Клітинні та молекулярні спінальні механізми ноцицепції як мішені для корегування хронічних больових синдромів», в якій окремими розділами є публікації здобувача, опублікованих у кількості не менше 10 у виданнях, віднесених до першого і другого квартилів (Q1 і Q2) відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank або Journal Citation Reports, цілком відповідає вимогам пунктів 10, 11 Порядку присудження наукових ступенів, затвердженого постановою Кабінету міністрів України від 24 липня 2013 року №567 зі змінами Вимог до оформлення дисертації (зокрема зазначених у розділі II), затверджених наказом Міністерства освіти і науки України від 12.01.2017 р. №40 (zareestrovano у Міністерстві юстиції України 03.02.2017 р. за №155/30023).

Директор НДІ ЕКМ
НМУ імені О.О.Богомольця,
д.мед.н., професор

Підпис д.мед.н., проф. Натрус Л.В.. засвідчую

Вчений секретар
НМУ імені О.О. Богомольця,
к.мед.н.

Л.В.Натрус

Л.В.Натрус



Р.С. Паливода