ВІДГУК

старшого наукового співробітника відділу
фармакології клітинних сигнальних систем та експериментальної терапії
ДУ "Інститут фармакології та токсикології НАМН України"
кандидата біологічних наук Сидоренка Вадима Геннадійовича
на дисертаційну роботу
Блащака Івана Олександровича
«Низхідна модуляція активності нейронів ноцицептивних мереж спинного мозку»
представлену на спеціалізовану вчену раду PhD11170
Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України
для розгляду та проведення разового захисту дисертації
на здобуття ступеня доктора філософії
з галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія

Актуальність теми дисертаційної роботи

Больова чутливість або ноцицепція є важливою сигнальною системою живих організмів. Больовий сигнал виникає в результаті пошкодження мембрани рецепторної клітини, порушень метаболізму: зміни pH, надлишку запальних медіаторів, таких як брадикінін, гістамін, простагландини, або в результаті гіпоксії тканин. Дослідження механізмів ноцицепції допомагає зрозуміти, як організм виявляє пошкодження і запускає адаптивні реакції, що призводять до усунення або ослаблення больового сигналу. Модуляція больової чутливості в спинному мозку відбувається завдяки складній системі взаємодії збудливих і гальмівних нейронів, медіаторів і низхідних шляхів.

Одним з головних механізмів регуляції болю на рівні задніх рогів спинного мозку є так званий «ворітний механізм», в якому задіяні тонкі ноцицептивні волокна (Aδ і C), що активують нейрони болю, і товсті механорецепторні волокна (Aβ), які активують інтернейрони, спричиняючи гальмівну дію на проведення больового сигналу. Ключові структури центральної нервової системи, що беруть участь у формуванні низхідного контролю болю, включають: периакведуктальну сіру речовину в середньому мозку, ростральний вентромедіальний відділ довгастого мозку (РВДМ), блакитну пляму, покришку мозку, а також проекції з кори головного мозку, гіпоталамуса і таламуса.

Аксони цих структур формують низхідні шляхи, які направляються до задніх рогів спинного мозку, де відбувається синаптична передача больової інформації від первинних аферентних нейронів до вторинних. Ці структури здатні пригнічувати проведення болю за рахунок вивільнення медіаторів серотоніну, норадреналіну та ендогенних опіоїдів, які, у свою чергу, активують гальмівні інтернейрони спинного мозку.

При цьому сильна або тривала ноцицепція може призвести до гіпералгезії через активацію проноцицептивних серотонінових рецепторів типу 5-HT_2, 5-HT_3 і посилення глутаматергічної передачі та NMDA-пластичності. В умовах нейропатичного болю також може зменшуватися активність інгібуючого підтипу серотонінових рецепторів (5-HT_1) і знижується ГАМК-ергічне та гліцинергічне гальмування. В результаті виникає центральна сенситизація, яка є ключовим механізмом хронічного болю та гіпералгезії.

Проте на рівні структур спинного мозку низхідна регуляція больових сигналів залишається мало вивченою, а її точні механізми нез'ясованими. Це стосується пластинки I, яка відіграє головну роль в обробці ноцицептивної та температурної інформації, а також пластинки X, нейрони якої належать до автономної нервової системи і беруть участь у регуляції вісцеральних функцій. Тому дисертаційна робота Блащака І.В., метою якої було дослідження низхідної модуляції активності нейронів ноцицептивних мереж спинного мозку, є актуальною та перспективною.

Наукова новизна отриманих результатів, їх теоретична та практична значущість

У дисертаційній роботі представлено низку нових наукових фактів щодо ролі низхідної регуляції ноцицептивних сигналів у першій і десятій пластинках люмбарної частини спинного мозку гризунів.

Вперше продемонстровано, що низхідний тракт задньобокового канатика спинного мозку чинить модулюючу дію на ноцицептивні входи до нейронів пластинки X. Ця структура має складну нейронну мережу, де функції первинно-аферентних нейронів піддаються диференціальній модуляції через моносинаптичні та полісинаптичні шляхи низхідного тракту РВДМ. Накопичення нейромедіаторів, що вивільняються з

пресинаптичних закінчень низхідних шляхів у позаклітинному просторі в спинному мозку, викликають тонічну деполяризацію, яка призводить до тривалого пресинаптичного гальмування ноцицептивних мереж десятої пластинки. Автором показано, що чутливі до капсаїцину TRPV1 рецептори в зоні пластинки X регулюють синаптичну активність, впливаючи як на пресинаптичні, так і на постсинаптичні механізми.

Використовуючи оптичну стимуляцію за допомогою генетично експресованого світлочутливого білка ChR2, було показано, що селективна активація низхідних аксонів РВДМ викликає моно- і полісинаптичні гальмівні відповіді в нейронах пластинки I. При цьому зменшення амплітуди збудливих струмів у моносинаптичних Aβ-аферентних входах під впливом активації аксонів РВДМ свідчить про пресинаптичний характер їх гальмування.

З теоретичної точки зору вивчення механізмів обробки ноцицептивної інформації допомагає розкривати фундаментальні принципи роботи нервової системи, включаючи роботу іонних каналів, сенсорної трандукції, а також взаємодію імунної та нервової систем. Робота також має важливе практичне значення. Відомо, що від 20 до 30% населення страждає на хронічні больові синдроми різного генезу. Хронічний біль знижує якість життя, призводить до інвалідизації та збільшує витрати на охорону здоров'я. Існуючі анальгетики мають серйозні побічні ефекти і не завжди ефективні при нейропатичному болю. Розуміння процесів передачі больового сигналу відкриває шлях до створення нових, адресних анальгетиків, а також розробки більш ефективних і безпечних методів анестезії та мультимодальної аналгезії в хірургічній практиці.

Обґрунтованість та достовірність наукових положень й висновків

Наведені в дисертаційній роботі наукові положення та висновки є достовірними та обґрунтованими. Автор використовував методологічний підхід із застосуванням інформативного та точного інструментарію, заснованого на найсучасніших методах дослідження, таких як оптогенетика, флуоресцентна мікроскопія і метод фіксації потенціалу «петч-кламп». Також розроблена методика ізоляції спинномозкового препарату, що зберігає провідні шляхи, такі як первинні аферентні входи, синаптичні контакти від внутрішніх спинальних мереж і низхідних трактів з ростровентромедіального довгастого

мозку. Всі маніпуляції з лабораторними тваринами проведені відповідно до вимог правил біоетики. Було приділено увагу контрольним експериментам для уточнення адекватності застосованих методів, що свідчить про критичність і об'єктивність підходів автора до досліджуваної тематики. Застосування комп'ютерного методу на основі досконалих систем статистичної обробки дозволило розширити кількість оброблюваних параметрів і знизити ймовірність статистичних помилок.

Висновки та наукові положення, сформульовані в дисертації, підтверджуються належним статистичним аналізом із застосуванням непараметричних тестів Манна–Вітні та Колмогорова–Смирнова, а також t-критерію Велча для нормально розподілених даних.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота виконана відповідно до загального плану науково- дослідних робіт відділу молекулярної біофізики (з 23.10.2023 р. – відділу біофізики сенсорної сигналізації) Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України в рамках науково-дослідних робіт:

«Дослідження низхідної регуляції активності сенсорних нейронів різних типів поверхневих ламін дорзального рогу та ламіни X, в нормі та при розвитку хронічних больових синдромів» (2024–2028; No держ. реєстрації – 0124U001557);

«Функціональні характеристики нейронів спинного мозку та їх зміни при різноманітних патологіях та травмах» (2019–2023; No держ. Реєстрації – 0118U007346);

«Роль TRP каналів у вісцеральній ноцицепції та порушенні скоротливої активності гладеньких м'язів, викликаної дією загальних анестетиків» (2022–2023; No держ. реєстрації – 0124U001557);

Структура, обсяг та повнота викладення матеріалів дисертаційної роботи

Дисертацію викладено українською мовою на 164 сторінках та ілюстровано 69 рисунками. Вона складається з анотації, змісту, переліку умовних скорочень, вступу, огляду літератури, опису матеріалів і основних методів дослідження, результатів досліджень, обговорення результатів дослідження, висновків, списку із 142 використаних джерел.

Зауваження та запитання до дисертаційної роботи

Під час ознайомлення з роботою виникли деякі запитання та зауваження, а саме:

1. У пункті 3.1.5 розділу «Результати» описано феномен відновлення збудливих постсинаптичних струмів на тлі інтенсивної і тривалої стимуляції ЗБК. Механізм, запропонований автором, пов'язаний з виснаженням пулу готових до виділення везикул на терміналах низхідних аксонів, які контролюють аферентні входи нейронів пластинки X. Однак відновлення активності первинних больових аферентних волокон після тривалої стимуляції задньобокового корінця може пояснюватися комбінацією інших факторів, зокрема реполяризацією і відновленням функції натрієвих каналів, поверненням мембранного потенціалу до вихідного рівня через активацію калієвої провідності та Na^+/K^+-АТФазного насоса, периферичною сенситизацією, індукованою вивільненням нейромедіаторів і нейропептидів (наприклад, субстанції Р і CGRP) у периферичних закінченнях аферентних волокон. Чи розглядалася автором участь таких механізмів у феномені постстимуляційної фасилітації?

2. У багатьох типах клітин, у тому числі і в популяції ноцицептивних сенсорних нейронів спинного мозку, канали TRPV1 спільно експресуються з TRPA1. Відомо, що TRPA1 відіграє ключову роль у механічній та холодовій гіпералгезії, а також активується окислювальним стресом, характерним для нейропатичних станів, таких як діабет або запальні реакції (D. Souza Monteiro de Araujo et al. (2020). TRPA1 as a therapeutic target for nociceptive pain. Expert Opinion on Therapeutic Targets, 24(10), 997–1008). Взаємодія TRPA1 і TRPV1 підсилює больову сигналізацію та бере участь у формуванні хронічного болю. Чи враховувалися можливість колокалізації та взаємодії цих типів каналів при оцінці впливу капсаїцину на мініатюрні постсинаптичні струми?

3. При дослідженні ролі нейромодуляторних систем у загальному пресинаптичному гальмуванні, у розділі 3.3 не була вказана концентрація агоністів синаптичної передачі. Також виникає питання, чому не були використані блокатори агоністів, які дозволили б відокремити неспецифічні ефекти?

Деякі зауваження стосуються подання даних:

1. Текст на сторінці 32 містить абревіатури (типи нейронів), які не внесені до списку скорочень і не розкриваються в тексті.

2. На деяких рисунках не вказані одиниці вимірювання по осях графіків (рис. 3.2, 3.15, 3.16, 3.20). Графік 3.19, можливо, варто було б зобразити у вигляді 3D-поверхні, що поліпшило б візуальне сприйняття даних. Дані в таблиці на рис. 3.16 Б містять занадто багато значущих цифр, що також ускладнює їх сприйняття.

3. Слід уважно вичитати текст дисертації на предмет граматичних помилок.

Висловлені зауваження та запитання мають дискусійний характер і не впливають на позитивну оцінку роботи.

Загальний висновок офіційного опонента

Дисертаційна робота Блащака Івана Олександровича повністю відповідає вимогам "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 від 12 січня 2022 р. № 44, вимогам до опублікування результатів дисертацій на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук, затверджених наказом МОН України від 23 вересня 2019 р. № 1220, вимогам щодо оформлення дисертації, затверджеными наказом МОН України від 12 січня 2017 р. № 40 (зі змінами, внесеними відповідними наказами МОН України) та відповідає напряму наукових досліджень освітньо наукової програми Біологія (Біофізика; Фізіологія людини і тварин; Патологічна фізіологія) третього освітньо-наукового рівня вищої освіти Інституту фізіології ім О.О. Богомольця НАН України зі спеціальності 091 Біологія.

Офіційний опонент

старший науковий співробітник
відділу фармакології клітинних сигнальних
систем та експериментальної терапії
ДУ "Інститут фармакології та токсикології
НАМН України"
кандидат біологічних наук Вадим СИДОРЕНКО

УКРАЇНА * НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК *
ДЕРЖАВНА УСТАНОВА ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ
Ідентифікаційний код 02011901

ДЕРЖАВНА УСТАНОВА
ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ
НАМН УКРАЇНИ
Підпис Сидоренко В.І.
Засвідчую
Учений секретар
Добрина Н.В.
"20" листопада 2025 р.