

АНОТАЦІЯ

Короїд К. В. Властивості ноцицептивного аферентного входу в першу і десяту пластини спинного мозку щурів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія та біохімія». – Інститут Фізіології Ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ, 2025 р.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню електрофізіологічних реакцій нейронів першої та десятої пластинок спинного мозку, що мають зв'язки із первинними аферентами поперекового відділу спинного мозку щурів, в нормі і за модельних патологічних станів. В роботі вперше виявлено, що активація TRPV1 у пластинці X зумовлює суттєве зростання частоти й, у частині нейронів, підвищення амплітуди збуджувальних постсинаптичних струмів, а окремі клітини демонструють додатковий повільний вхідний струм. Також в ході дисертаційного дослідження були зафіксовані зміни в електрофізіологічних типах нейронів I пластинки за патологічних станів і встановлені патологічні типи які можуть бути асоційовані з алодинією, гіпералгезією та спонтанним болем

На сьогодні проблема ефективного лікування болю різного етіології залишається одним із актуальних викликів для сучасної медицини. Хронічний біль часто супроводжується центральною сенсibiliзацією, тож навіть найсучасніші фармакологічні підходи виявляються недостатньо дієвими, оскільки не враховують усього спектра змін, що відбуваються в нервовій системі. Розробка нових знеболювальних стратегій ускладнюється тим, що наше розуміння організації та регуляції сенсорної системи за нормальних умов, а також змін, які відбуваються під час патологічних процесів, досі є неповним. Саме це стоїть на перешкоді в пошуку і впровадженні новітніх методів купування больового відчуття.

Згідно з сучасними уявленнями, больові сигнали проходять крізь багатоетапну систему, яка охоплює як периферичну ланку (периферичні нерви, рецептори в шкірі, м'язах, суглобах), так і складні мережі спинного та головного мозку. Особливої уваги заслуговують спинномозкові нейрони, адже вони є проміжною ланкою між первинними аферентами і вищими центрами больової обробки, передаючи сигнали про потенційно шкідливі подразники. Ці нейрони розташовані переважно в пластинці I дорсального рогу, мають специфічні електрофізіологічні властивості і відіграють важливу роль у формуванні адекватної больової реакції.

Важливим напрямом досліджень стає і пластинка X, що, серед іншого, інтегрує соматичну та вісцеральну ноцицептивну інформацію. Наявність у цій пластинці рецепторних систем, залучених до больової модуляції, зокрема TRPV1-рецепторів, вказує на те, що ця зона може брати активну участь у процесах центральної сенсibiliзації. Вивчення пластинки X разом з пластинкою I відкриває нові перспективи в пошуку мішеней для терапевтичного втручання, адже розуміння механізмів, що визначають перехід гострого болю в хронічний, дає змогу розробляти більш таргетні та ефективні методи лікування больових синдромів.

Нейропатичний біль є виснажливим станом, який погіршує якість життя й виникає внаслідок патологічних змін в соматосенсорній нервовій системі. Його клінічними ознаками є гіпералгезія (надмірна реакція на шкідливі подразники), алодинія (болісна відповідь на нешкідливі подразники) та спонтанний біль. Наявні методи лікування обмежені через відсутність повного розуміння клітинних механізмів, що лежать в основі патологічних станів. Для з'ясування патологічних змін та ролі нейронів пластинки I у формування хронічного болю було використано модель нейропатичного болю з частковим пошкодженням нерва.

Аналіз отриманих у даному дослідженні даних показав, що у тварин із частковим пошкодженням нерва помітно змінюються характеристики відповідей спинномозкових-парабрахіальних нейронів які виникають при

стимуляції первинних аферентів. Зокрема спостерігається поява нехарактерних за їх електрофізіологічними характеристиками для контрольних тварин типів нейронів, які реагують на стимуляцію суббольового діапазону, що може свідчити про їх залученість в формування алодинії. Крім того, за умов нейропатичного болю, виникають інші підтипи нейронів які у відповідь на больовий стимул переходять в стан тривалої генерації потенціалів дії, що може зумовлювати розвиток гіпералгезії. Понад те, більше третини клітин досліджених в у умовах індукованого патологічного стану демонстрували стан тривалої генерації потенціалів дії без стимуляції аферентів, що, імовірно, свідчить про розвиток спонтанного болю. Таким чином, виявлені зміни електрофізіологічної поведінки нейронів пластинки I підтверджують їх залученість у патогенез хронічного болю.

У проведеному дослідженні отримано експериментальні докази безпосередньої участі нейронів пластинки X спинного мозку щурів у регуляції больової сигналізації. Зокрема, у пластинці X виявлено три основні типи нейронів: односпайкові, тонічні та відтерміновані. Тонічні клітини (близько 43% популяції) підтримують тривалу генерацію потенціалів дії й запобігають надмірній збудливості за патологічних станів, оскільки вважаються переважно, гальмівними. Односпайкові нейрони характерно відповідають одиночним потенціалом дії у відповідь на внутрішньоклітинну стимуляцію струмом та, імовірно, відповідають за швидку передачу больових сигналів, а відтерміновані, генеруючи потенціали дії з часовою затримкою яка залежить від інтенсивності стимулу, можуть кодувати інтенсивність стимулу, ставлячи їй у відповідність кількість потенціалів дії.

У механізмах центральної сенсibiliзації суттєву роль відіграє TRPV1, чия активація в пластинці X стимулює посилений викид глутамату й стимулює активність мережі в цій зоні. Блокування AMPA–рецепторів майже повністю придушує капсаїцин-індуковану активність, тоді як пригнічення NMDA–рецепторів лише знижує її інтенсивність. Така взаємодія TRPV1 із

глутаматними рецепторами різних типів може потенційно розглядається як мішень для терапевтичного впливу на патологічний біль.

Ключові слова: Спинний мозок, ноцицепція, біль, капсаїцин, гостра травма, кальцієва сигналізація, нейрони головного мозку та нейрозапальні клітини, NMDA, ушкодження периферичних нервів, інвазивна електрична стимуляція, електростимуляція, TRP–канали, електрофізіологія, нейрони, петч-клемп, спайки.

SUMMARY

Koroid Kostiantyn. Properties of nociceptive afferent input into the first and tenth lamina of the rat spinal cord. –Qualification scientific work on the rights of the manuscript. Dissertation for the Philosophy Doctor degree in field of knowledge 09 "Biology" in specialty 091 "Biology and Biochemistry". – Institute of Physiology named after O.O. Bogomolets NAS of Ukraine, Kyiv, 2025.

The dissertation is dedicated to studying the neurons electrophysiological responses in the first and tenth laminae of the spinal cord, which are connected to primary afferents in the lumbar spinal cord of rats, under normal and modeled pathological conditions. For the first time, the study revealed that TRPV1 activation in lamina X significantly increases the frequency and, in some neurons, the amplitude of excitatory postsynaptic currents, while certain cells demonstrate an additional slow inward current. Furthermore, changes in the electrophysiological types of neurons in lamina I under pathological conditions were recorded, and pathological types potentially associated with allodynia, hyperalgesia, and spontaneous pain were identified.

Today, the problem of effective treatment of pain of various etiologies remains one of the urgent challenges for modern medicine. Chronic pain is often accompanied by central sensitization, making even the most advanced pharmacological approaches insufficiently effective as they fail to address the full spectrum of changes occurring in the nervous system. The development of new analgesic strategies is complicated by the fact that our understanding of the organization and regulation of the sensory system under normal conditions, as well as the changes that occur during pathological processes, is still incomplete. This gap hinders the search and implementation of novel methods for alleviating pain.

According to current concepts, pain signals pass through a multi-stage system that includes both the peripheral components (peripheral nerves, receptors in the skin, muscles, and joints) and complex networks of the spinal cord and brain. Spinal cord neurons deserve special attention as they act as intermediaries between

primary afferents and higher pain processing centers, transmitting signals about potentially harmful stimuli. These neurons are primarily located in lamina I of the dorsal horn, possess specific electrophysiological properties, and play a crucial role in forming appropriate pain responses.

Lamina X, which, among other things, integrates somatic and visceral nociceptive information is becoming an important area of research. The presence of receptor systems, that involved in pain modulation, in this lamina, in particularly TRPV1 receptors, suggests that this region may actively participate in central sensitization processes. Investigating lamina X alongside lamina I opens new perspectives for identifying therapeutic targets, as understanding the mechanisms underlying the transition from acute to chronic pain enables the development of more targeted and effective treatments for pain syndromes.

Neuropathic pain is a debilitating condition that impairs the quality of life and arises from pathological changes in the somatosensory nervous system. Its clinical manifestations include hyperalgesia (exaggerated response to harmful stimuli), allodynia (painful response to non-harmful stimuli), and spontaneous pain. Current treatment methods are limited due to the lack of complete understanding of the cellular mechanisms underlying these pathological states. To clarify the pathological changes and the role of lamina I neurons in the formation of chronic pain, a model of neuropathic pain with partial nerve damage was used.

Analysis of the data obtained in this study demonstrated significant changes in the response characteristics of spinoparabrachial neurons to primary afferent stimulation in animals with partial nerve injury. Specifically, the appearance of neuron types with atypical electrophysiological characteristics compared to control animals was observed. These neurons responded to subthreshold stimuli, suggesting their involvement in the formation of allodynia. Additionally, under neuropathic pain conditions, other neuron subtypes emerged that transitioned into a state of prolonged action potential generation in response to painful stimuli, potentially leading to hyperalgesia. Moreover, over one-third of the cells examined under induced pathological conditions exhibited sustained action potential

generation without afferent stimulation, likely indicating the development of spontaneous pain. Thus, the identified changes in the electrophysiological behavior of lamina I neurons confirm their involvement in the pathogenesis of chronic pain.

The study provided experimental evidence of the direct involvement of lamina X neurons in the rat spinal cord in pain signal regulation. Specifically, three main types of neurons were identified in lamina X: single-spike, tonic, and delayed neurons. Tonic cells (about 43% of the population) support sustained generation of action potentials and prevent excessive excitability in pathological conditions, since they are considered predominantly inhibitory. Single-spike neurons typically respond with a single action potential to intracellular current stimulation and are likely responsible for the rapid transmission of pain signals, while delayed neurons generate action potentials with a time delay dependent on stimulus intensity, potentially encoding stimulus intensity by the number of action potentials.

TRPV1 plays a significant role in the mechanisms of central sensitization, as its activation in lamina X enhances glutamate release and stimulates network activity in this area. Blocking AMPA receptors almost completely suppresses capsaicin-induced activity, whereas inhibiting NMDA receptors only moderately reduces it. The interaction of TRPV1 with different types of glutamate receptors can potentially be considered a target for therapeutic intervention in pathological pain.

Keywords: Spinal cord, nociception, pain, capsaicin, Acute injury, Ca²⁺ signalling, brain neurons and neuroinflammatory cells, NMDA, peripheral nerve injury, invasive electrical stimulation, electrostimulation, TRP channels, electrophysiology, neurons, patch-clamp, spiking patterns.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА:

В яких опубліковано основні наукові результати дисертації:

1. Volodymyr Krotov , Kirill Agashkov, Sergii Romanenko, **Kostiantyn Koroid**, Marharyta Krasniakova, Pavel Belan, Nana Voitenko. (2023) Neuropathic pain changes the output of rat lamina I spino-parabrachial neurons. BBA Advances. 3. 100081. <https://doi.org/10.1016/j.bbadv.2023.100081> (Q3)
2. **K.V. Koroid**, I.O. Blashchak, S.V. Romanenko (2024) The Role of TRPV1 and Glutamate Receptors in the Synaptic Activity of Lamina X Neurons of the Rat Spinal Cord. Fiziol. Zh. 2024; 70(5): 49-55. <https://doi.org/10.15407/fz70.05.049>

Які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

1. К. Короїд; І. Блащак; С. Романенко; П. Белан, Пластинки Х: вплив капсаїцину та тетродотоксину, XXIII читання ім. В. В. Підвисоцького, 2024, Одеса, Україна.
2. **К. В. Короїд** , І. О. Блащак , С. В. Романенко , В. В. Кротов ,К. С. Агашков , М. Є. Краснякова , П. В. Білан ,Н. В. Войтенко, Сенсорна ноцицептивна активність в першій та десятій пластинці лямбального відділу спинного мозку щурів в умовах норми та паталогії, VII науково-практична конференція «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція», 2024, Харків, Україна.
3. I. Blashchak, S. V. Romanenko, O. Halaidych, **K. Koroid**, V. Krotov, B. V. Safronov, Y. M. Usachev, N. V. Voitenko, P. Belan, Descending control of nociceptive processing in spinal lamina X, SfN Neusoscience Meeting Planner, 2024, Chicago, USA
4. **Koroid K. V.**; Blaschak I. O.; Romanenko S. V.; Belan P. V., Nociceptive signaling in lamina X neurons: impact of capsaicin and

tetrodotoxin, XVIII Ukrainian Conference of Young Scientists of IMBG of NAS of Ukraine, 2024, Kyiv, Ukraine.

5. **К. В. Короїд**, І. О. Блащак, С. В. Романенко, В. В. Кротов, К. С. Агашков, М. Є. Краснякова, Сенсорна сигналізація в першій і десятій пластинці спинного мозку щурів у нормі та патології, Міжнародна конференція з нейронаук та Наукових читань, присвячених вісцеральній фізіології та патофізіології, на базі Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, 19-21 листопада 2024 року, Київ, Україна.