

АНОТАЦІЯ

Блашак Іван Олександрович. Низхідна модуляція активності нейронів ноцицептивних мереж спинного мозку. – 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.

Ініціація і підтримання болю залежать від складної активності периферичних і центральних нейронних мереж. Первинні аференти передають сенсорні сигнали від рецепторів через ганглії дорзального корінця до сірої речовини спинного мозку, де інформація обробляється проєкційними та локальними нейронами. Ключовими зонами для передачі ноцицептивних сигналів є поверхня дорзального рогу і області навколо центрального каналу (пластинки I та X). Активність нейронів із супраспінальними проєкціями передається далі висхідними трактами у головний мозок. Низхідні шляхи зі стовбура мозку, в першу чергу ті, що проходять в складі задньобічного канатика (ЗБК), модулюють активність спинномозкових ноцицептивних зон, що може посилювати або пригнічувати біль. Механізми цієї низхідної регуляції, особливо у пластинках I та X, залишаються недостатньо вивченими.

Ростральна вентромедіальна зона довгастого мозку (РВДМ) є центральною ретрансляційною станцією серед низхідних шляхів больової регуляції, яка отримує проєкції від кори, периакведуктальної сірої речовини, таламуса та інших структур. Активність РВДМ відіграє роль як у формуванні больових відчуттів, так і їх пригніченні, проте детальне розуміння механізмів цих процесів на рівні спинного мозку досі відсутнє.

Метою роботи було визначення синаптичних механізмів низхідної модуляції нейронних мереж ноцицептивних пластин спинного мозку. Відповідно до мети завданнями роботи було з'ясувати вплив низхідних волокон у складі ЗБК

та низхідних шляхів від РВДМ на первинно-аферентні входи та активність нейронів першої та десятої пластинок спинного мозку гризунів.

Об'єктом досліджень була активність нейронів першої та десятої пластинок дорзального рогу спинного мозку, в той час як предметом досліджень були механізми низхідної модуляції цих нейронів.

У роботі з використанням ряду сучасних методик – електрофізіологічних, фармакологічних та оптогенетичних – проведено дослідження з ціллю відповісти на широке коло окреслених питань. Зокрема, вперше було показано, що активність нейронів ноцицептивних мереж пластинки X спинного мозку майже повністю контролюється низхідними шляхами в складі ЗБК, при цьому модуляторна дія цих шляхів залежить від частоти і тривалості їх активності. За допомогою розробленої методики специфічної фотостимуляції волокон, що походять з РВДМ у *ex-vivo* препараті спинного мозку, вперше було показано, що активація цієї групи низхідних аксонів спричиняє моно- та полісинаптичні гальмівні відповіді в нейронах пластинки I, а також пресинаптично регулює як збуджувальні, так і гальмівні входи у мережі нейронів дорзального рогу.

Низхідні шляхи є потенційними мішенями для фармакологічної терапії патологічних больових станів. Розуміння механізмів хронічного болю неможливе без розуміння нормальної фізіології структур, які беруть участь у його регуляції та підтриманні. Тому подібні дослідження сприятимуть розробці нових та покращенню існуючих засобів лікування хронічного болю, зокрема, спрямованих на відновлення збалансованої низхідної модуляції.

Загалом, в роботі показано, що активність низхідних шляхів, яка відповідає ендогенній, здатна здійснювати повний контроль нейронних мереж люмбарного відділу спинного мозку шляхом одночасного пре- та постсинаптичного інгібування. Підтверджено, що до пресинаптичного інгібування первинних аферентів спільно залучені декілько нейромодуляторів – норадреналін, допамін, серотонін і ендогенні опіоїди. Наведені в роботі дані свідчать про потужну і точну низхідну модуляцію соматосенсорної та вісцеральної ноцицепції у першій і десятій пластинках спинного мозку.

Ключові слова: синаптична передача, спинний мозок, TRP-канали, електрофізіологія, іонний канал; нейрони, вісцеральний біль, мозок, внутрішньоклітинний кальцій, Ca^{2+} -транзєнти, ішемія, ексайтотоксичність, гальмування, викликані постсинаптичні струми; електрична стимуляція.

ANOTATION

Blashchak Ivan. Descending modulation of neuronal activity in the spinal cord nociceptive networks. –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 initiation and maintenance of pain depend on the complex activity of peripheral and central neuronal networks. Primary afferents transmit sensory signals from receptors through dorsal root ganglia to the gray matter of the spinal cord, where the information is processed by local circuit and projection neurons. Key areas for transmitting nociceptive signals are the surface of the dorsal horn and regions around the central canal (laminae I and X). The activity of neurons with supraspinal projections is further transmitted by ascending tracts to the brain. Descending pathways from the brainstem, primarily those passing through the dorsolateral funiculus (DLF), modulate the activity of spinal nociceptive zones, which can either enhance or suppress pain. The mechanisms of this descending regulation, especially in laminae I and X, remain insufficiently studied. The rostroventromedial medulla (RVM) is a central relay station among descending pain regulation pathways, receiving projections from the cortex, periaqueductal gray, thalamus, and other structures. The activity of the RVM plays a role both in the formation and suppression of pain sensations, but a detailed understanding of the mechanisms of these processes at the spinal cord level is still absent.

The aim of this work was to identify synaptic mechanisms of descending modulation of neuronal networks in the nociceptive laminae of the spinal cord. According to this aim, the tasks were to clarify the influence of descending fibers in the DLF and descending pathways from the RVM on primary afferent inputs and the activity of neurons in laminae I and X of the rodent spinal cord.

The object of the study was the activity of neurons in laminae I and X of the dorsal horn of the spinal cord, while the subject was the mechanisms of descending modulation of these neurons.

Using a range of modern methods—electrophysiological, pharmacological, and optogenetic—research was conducted to answer a broad set of questions outlined above. Notably, for the first time it was shown that the activity of neurons in the nociceptive networks of lamina X of the spinal cord is almost entirely controlled by descending pathways within the LF, with the modulatory effect of these pathways depending on the frequency and duration of their activity. Using a developed method of specific photostimulation of fibers originating from the RVM in an *ex vivo* spinal cord preparation, it was demonstrated for the first time that activation of this group of descending axons causes mono- and polysynaptic inhibitory responses in neurons of lamina I, and also presynaptically regulates both excitatory and inhibitory inputs in the dorsal horn neural networks.

Descending pathways are potential targets for pharmacological therapy of pathological pain states. Understanding the mechanisms of chronic pain is impossible without comprehending the normal physiology of structures involved in its regulation and maintenance. Therefore, such studies will contribute to the development of new and improvement of existing treatments for chronic pain, in particular those aimed at restoring balanced descending modulation.

In general, this work demonstrated that the activity of descending pathways, which corresponds to endogenous pain regulation, is capable of complete control over neuronal networks in the lumbar spinal cord through simultaneous pre- and postsynaptic inhibition. It was confirmed that presynaptic inhibition of primary afferents involves a whole range of neuromodulators—noradrenaline, dopamine, serotonin, and endogenous opioids. The data presented indicate powerful and precise descending modulation of somatosensory and visceral nociception in spinal cord laminae I and X.

Keywords: synaptic transmission, spinal cord, TRP channels, electrophysiology, ion channel; neurons, visceral pain, brain, intracellular calcium,

Ca²⁺ transients, ischemia, excitotoxicity, inhibition, evoked postsynaptic currents;
electrical stimulation

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

В яких опубліковано основні наукові результати дисертації:

1. Krotov, V., **Blashchak, I.**, Moore, J., Moore, A., Romanenko, S., Voitenko, N. and Belan, P. (2025). Optogenetic Approach for Investigating Descending Control of Nociception in Ex Vivo Spinal Cord Preparation. *Bio-protocol* 15(21): e5483. DOI: 10.21769/BioProtoc.5483. (Q3)

2. Koroid, K., **Blashchak, I.**, & Romanenko, S. (2024). The role of TRPV1 and glutamate receptors in the synaptic activity of lamina X neurons of the rat spinal cord. *Fiziologičnij Žurnal*, 70(5), 49–55. <https://doi.org/10.15407/fz70.05.049>

Які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

1. **Blashchak, I.**, Krotov, V., Voitenko, N., Belan, P., Descending control of lumbar spinal cord neurons by rostroventromedial medulla. *FENS Regional Meeting 2021*, Krakov, Poland, poster session

2. **Blaschak I. O.**; Krotov V. V.; Romanenko S. V.; Voitenko N.V.; Belan P. V., Descending control of dorsal horn neurons by rostral ventromedial medulla, *XVIII Ukrainian Conference of Young Scientists of IMBG of NAS of Ukraine*, 2024, Kyiv, Ukraine

3. 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

4. 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 люмбарного 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.

5. К. Короїд; **І. Блащак**; С. Романенко; П. Белан, Пластинка X: вплив капсаїцину та тетродотоксину, *XXIII Читання ім. В. В. Підвисоцького*, 2024, Одеса, Україна

6. **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

7. Koroid K.V., Romanenko S.V., **Blashchak I. O.**, Belan P.V Functional diversity of lamina X neurons and their synaptic response to TRPV1 activation. *XIX Ukrainian Conference of Young Scientists of IMBG of NAS of Ukraine*, 2025, Kyiv, Ukraine

8. **Blashchak I.O.**, Romanenko S.V., Halaidych O.V., Koroid K.V., Krotov V.V., VoitenkoN.V. Belan P.V., Mechanisms of descending control of nociceptive networks in spinal lamina X. *XIX Ukrainian Conference of Young Scientists of IMBG of NAS of Ukraine*, 2025, Kyiv, Ukraine

9. А. Андрієвська, **І. Блащак**, О. Галайдич, А. Нечай, В. Кротов, П. Білан, Роль низхідних шляхів у регуляції нейронних мереж десятої пластинки спинного мозку, *IX Міжнародна наукова конференція «Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології»*, 2025, Київ, Україна