

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

на дисертаційну роботу

Короїда Костянтина Володимировича

«Властивості ноцицептивного аферентного входу в першу і десятю пластини
спинного мозку щурів»,

подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії
у галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія та біохімія»

Актуальність проблематики дисертаційного дослідження

Хронічний біль є значною глобальною проблемою громадського здоров'я та однією з провідних причин інвалідності. Він створює значне навантаження як на пацієнтів, так і на систему охорони здоров'я у цілому. За різними оцінками від 20 до понад 30% населення дорослого віку страждають від хронічного болю. Хронічний біль високої інтенсивності, який суттєво впливає на якість життя, відмічається у 7,4% дорослих і є однією з найбільш поширених причин інвалідизації населення, оскільки він суттєво обмежує можливості людини виконувати роботу, вести нормальне соціальне життя або навіть доглядати за собою. Крім того, виявлено зв'язок між хронічним болем та показниками зловживання опіоїдами.

У той же час проблема ефективного лікування болю різної етіології залишається одним із актуальних викликів для сучасної медицини. Хронічний біль часто супроводжується центральною сенсibilізацією, 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 більш ефективних і селективних підходів до лікування хронічного болю.

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 нервовими центрами обробки больових стимулів. Ці нейрони розташовані переважно в пластинці I дорсального рогу, мають специфічні електрофізіологічні властивості і відіграють важливу роль у формуванні адекватної больової реакції.

Гетерогенність морфофункціональних властивостей нейронів у дорсальному розі та різноманіття рецепторних систем (іонотропні, метаботропні глутаматні, ГАМКергічні, гліцинергічні) зумовлюють складні механізми передачі больового сигналу. Зокрема, іонотропні глутаматні рецептори, такі як AMPA, NMDA та калієві рецептори, забезпечують швидку передачу збудження, а активація NMDA рецепторів спричиняє пластичність синаптичної передачі, що може призвести до посилення больових відчуттів у випадку її гіперактивації. Таким чином, пошук нових методів лікування хронічного болю включає використання блокаторів TRPA1 і TRPV1, здатних інгібувати розвиток нейрогенного запалення, а також селективних інгібіторів NMDA рецепторів, які можна застосовувати залежно від етіології та механізмів формування болю. Варто відмітити, що класичні антагоністи NMDA рецепторів, такі як кетамін, є ефективними анестетиками і анальгетиками, але їх застосування обмежене значними побічними ефектами, адже глутаматні рецептори є основними збуджувальними рецепторами центральної нервової системи, оскільки глутамат — це найважливіший збуджувальний нейромедіатор у ЦНС ссавців. Саме цьому потрібно шукати альтернативні можливості для фармакологічної корекції таких патофізіологічних станів, і у цьому контексті дана дисертаційна робота є дуже актуальною.

Важливим напрямом досліджень стає і пластина X, що, серед іншого, інтегрує соматичну та вісцеральну ноцицептивну інформацію. Наявність у цій пластині залучених до больової модуляції рецепторних систем, зокрема TRPV1 рецепторів (Ca^{2+} проникних катіонних каналів), вказує на те, що ця зона може брати активну участь у процесах центральної сенсibiлізації. Вивчення пластини X разом з пластиною 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.

Таким чином, дослідження нейробиологічних механізмів формування відчуття болю, особливо за участю пластин I та X спинного мозку, та пошук нових терапевтичних мішеней було і залишається актуальним завданням сучасної нейронауки, що має важливе практичне значення для розробки ефективних методів лікування хронічного болю.

Наукова новизна отриманих результатів, їх теоретична та практична значимість

У дисертації вперше показано зміни пропорцій електрофізіологічних типів нейронів в експериментальній моделі нейропатичного болю. Також були встановлені нові типи нейронів за їх електрофізіологічними відповідями, які характерні для цієї патології. Продемонстровано, що деякі ноцицептивні нейрони пластини I стають чутливими до низькопорогових не больових стимулів. Було показано, що у щурів в моделі часткового ушкодження сідничного нерву в пластині I з'являються нейрони, які здатні спонтанно переходити в стан тривалої генерації потенціалів дії.

Було експериментально підтверджено, що ноцицептивні первинні аференти іннервують нейрони пластини X. Вперше було показано, що TRPV1 рецептори експерсуються як на пресинаптичній, так і на постсинаптичній клітинах.

Вперше показано, що активація ванілоїдних рецепторів призводить до збільшення загальної фонові активності в мережі пластини X на прикладі мініатюрної постсинаптичної активності. Також показано, що існує два типи нейронів в пластині X, якщо аналізувати їх реакції на активацію TRPV1 рецепторів селективним агоністом цих рецепторів капсаїцином. Показано складний двофазний характер змін в мініатюрній постсинаптичній активності у відповідь на активацію TRPV1.

Вперше було експериментально продемонстровано домінуючу роль AMPA рецепторів у формуванні змін спонтанної постсинаптичної активності при дії агоніста ванілоїдного рецептора.

Таким чином, отримані результати є новими, і вони мають як теоретичне, так і практичне значення на шляху до кращого розуміння хронічного болю, що відкриває нові перспективи для його лікування.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень та висновків дисертаційної роботи

У дисертаційному дослідженні Короїд К.В. використовував як класичні загальновизнані методи досліджень, так і нові сучасні методи, що дозволило виконати роботу на високому науковому рівні. Для виконання дисертаційної роботи здобувачем використано ряд методик, зокрема це маркування спинно-парабрахіальних нейронів, метод локальної фіксації потенціалу клітинної мембрани, метод отримання цілісних *ex vivo* препаратів спинного мозку для отримання доступу до нейронів I та X пластин, а також поведінкові тести. Всі маніпуляції з лабораторними тваринами проведено згідно норм біоетики та біологічної безпеки. Результати дисертаційного дослідження Короїда К.В. представлено на високому науковому рівні, а також наведено обговорення отриманих результатів у порівнянні із сучасними роботами інших авторів.

Положення та висновки, отримані автором у процесі дослідження, належним чином аргументовані та науково обґрунтовані. Достовірність

сформульованих у дисертації наукових положень та висновків підтверджується належним статистичним аналізом даних включно непараметричні тести Манна-Вітні або Колмогорова-Смірнова, тест Шапіро-Вілکا, *t*-тест Стьюдента, для аналізу категорійних даних використовували точний тест Фішера, метод кластеризації К-середніх та метод силуету для оцінки кластеризації, адекватним дизайном експериментів, структурованістю та логічною послідовністю етапів дослідження.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота виконана в рамках відомчих тем НДР відділу Біофізики сенсорної сигналізації Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України та міжнародних наукових проєктів: «Дослідження низхідної регуляції активності сенсорних нейронів різних типів поверхневих ламін дорсального рогу та ламіни X, в нормі та при розвитку хронічних больових синдромів» (2024–2028; № держ. реєстрації — 0124U001557); «Функціональні характеристики нейронів спинного мозку та їх зміни при різноманітних патологіях та травмах» (2019–2023; № держ. реєстрації — 0118U007346); «Роль TRP каналів у вісцеральній ноцицепції та порушенні скоротливої активності гладеньких м'язів, викликаній дією загальних анестетиків» (2022–2023; № держ. реєстрації — 0124U001557); «The Role of the Complement System in Spinal Mechanisms of Chronic Pain» (2019–2024 National Institute of Neurological Disorders and Stroke, National Institutes of Health, USA).

Структура, обсяг та повнота викладення матеріалів дисертаційної роботи

Дисертаційна робота є рукописом українською мовою обсягом 122 сторінки. Дисертація має типову структуру та складається з анотації, змісту, переліку умовних скорочень, вступу, огляду літератури, опису матеріалів і основних методів дослідження, результатів досліджень, обговорення

результатів дослідження, висновків, списку із 78 використаних джерел. Дисертація ілюстрована 28 рисунками. Автор роботи приділив значну увагу детальному опису використаних ним експериментальних методів, підходів і протоколів. Дотримання засад академічної доброчесності в виконаному дисертаційному дослідженні додатково засвідчується результатами перевірки на академічний плагіат з використанням програми Unicheck.

Питання, дискусійні положення і зауваження до дисертаційної роботи

При ознайомленні з роботою виникли деякі запитання та зауваження, які переважно мають дискусійний характер, а саме:

1. Зазначається, що для кластеризації даних з метою класифікації нейронів за їх за електрофізіологічними параметрами використовували дві основні характеристики нейронів — амплітуду та частоту потенціалів дії. Можливо, більш інформативними для кластеризації даних були б такі параметри, як величина потенціалу спокою, вхідний опір клітини, швидкість наростання висхідної фази потенціалів дії, тощо. Чи розглядались інші варіанти класифікації нейронів за такими ознаками?
2. У продовження цього питання стосовно класифікації нейронів — чи відмічались якісь інші відмінності між трьома групами нейронів, такі як морфологічні ознаки, відміни у розмірі соми або ємності клітини як корелята розміру клітини?
3. Розділ «Результати досліджень» інколи містить текст та пояснення, які краще було б представити в огляді літератури (наприклад, перші 2 сторінки підрозділу 3.1 та перша сторінка підрозділу 3.2).
4. Помітно, що потенціали дії у нейронах відтермінованого типу Х пластини характеризуються значно більшою тривалістю у порівнянні з нейронами односпайкового та тонічного типів. Це важливий параметр, що може свідчити як про більш значний внесок вхідних струмів з повільною інактивацією (наприклад, через потенціалзалежні кальцієві

канали), так і про більш повільну активацію вихідних калієвих струмів. Варто було б для класифікації нейронів приділити тривалості потенціалів дії окрему увагу.

5. Після відкриття TRPV1 каналів, які з самого початку досліджень у цій галузі були охарактеризовані як рецептори болю, тепла та капсаїцину (Caterina et al., The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* 1997; 389(6653):816-824) інші дослідження довели, що капсаїцин не є абсолютно специфічним до TRPV1 каналів агоністом. Так, капсаїцин може інгібувати рецептор холоду і ментолу TRPM8 (Takaishi et al., Reciprocal effects of capsaicin and menthol on thermosensation through regulated activities of TRPV1 and TRPM8. *J Physiol Sci* 2016; 66(2):143-155), а також впливати на активність ще одного термочутливого іонного каналу, а саме TRPA1 (Kanda et al., Capsaicin indirectly regulates TRPA1 via the arachidonic acid cascade, resulting in TJ opening. *Biosci Biotechnol Biochem* 2023; 88(1):44-52). Виникає питання наскільки врахування таких ефектів капсаїцину може вплинути на інтерпретацію даних, які представлені у розділах 3.3-3.4, адже відомо, що TRPM8 і TRPA1 канали так само як і TRPV1 канал, відіграють важливу роль у виникненні хронічного болю.
6. На рис. 3.3.6 не відмічений моменти додавання та відмивання капсаїцину.

Висловлені зауваження і запитання носять дискусійний характер, вони не впливають на загально позитивну оцінку роботи.

Висновок офіційного опонента

Дисертаційна робота Короїда Костянтина Володимировича «Властивості ноцицептивного аферентного входу в першу і десятю пластини спинного мозку щурів» є самостійно проведеним, оригінальним і завершеним

дослідженням, яке спрямовано на вирішення актуальної наукової проблеми і яке містить нові, науково обґрунтовані дані, положення і висновки, що мають наукову, теоретичну і практичну цінність.

Представлена Короїдом Костянтином Володимировичем дисертаційна робота на тему «Властивості ноцицептивного аферентного входу в першу і десятю пластини спинного мозку щурів» відповідає усім вимогам Постанови Кабінету міністрів України №44 від 12 січня 2022 року “Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії” та відповідає напряму наукових досліджень освітньо-наукової програми Біологія та біохімія (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 та біохімія, а її автор заслуговує на присудження йому наукового ступеня доктора філософії у галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія та біохімія».

Офіційний опонент

завідувач кафедри біофізики та нейробиології

Навчально-наукового центру “Інститут біології та медицини”

Київського національного університету

імені Тараса Шевченка

доктор біологічних наук, професор



Олександр ЖОЛОС

