

РЕЦЕНЗІЯ

провідного наукового співробітника відділу цитології
Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України,
доктора біологічних наук Лушнікової Ірини Василівни
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

Дисертаційна робота торкається важливого питання – як головний мозок здатен керувати обробкою та передачею ноцицептивних (больових) сигналів на рівні спинного мозку. Ініціація та підтримання больових відчуттів формуються внаслідок узгодженої активності периферичних і центральних нейронних мереж. Первинні аферентні волокна передають сигнали від периферичних рецепторів через ганглії дорзального корінця до сірої речовини спинного мозку, де ця інформація інтегрується мережею локальних та проекційних нейронів. Нейрони, аксональні проекції яких піднімаються до супраспінальних структур, передають сигнал далі висхідними трактами до головного мозку.

В свою чергу, зі сторони головного мозку для регуляції ноцицептивного входу існують низхідні системи контролю, що модулюють активність нейронів у спинному мозку. Вони здатні як посилювати, так і пригнічувати передачу больових імпульсів. Одним із ключових центрів, пов'язаних саме з регуляцією ноцицептивної передачі, є ростровентромедіальний довгастий мозок (РВДМ).

Попри значний прогрес у цій галузі, детальні механізми такої низхідної модуляції залишаються нез'ясованими. Це особливо стосується пластинки Х, яка вважається однією з найменш вивчених областей центральної нервової системи.

Основна мета дисертації – з'ясувати синаптичні механізми, за допомогою яких низхідні шляхи, зокрема проєкції від РВДМ, впливають на активність нейронів ноцицептивних мереж спинного мозку, зокрема пластинок І та Х дорзального рогу. Саме ці зони є ключовими для передачі та обробки ноцицептивної інформації як від соматичних, так і від вісцеральних структур. Також, у роботі враховано особливості роботи нейронів РВДМ, які утворюють низхідні проєкції, та тому, як ці особливості можуть бути пов'язані з їх роллю для модуляції болю.

Враховуючи поширеність патологічних больових станів та складність їх лікування тематика дисертації є особливо актуальною. Зокрема терапія хронічного болю є серйозною проблемою для сучасної медицини, адже стандартні фармакологічні підходи, ефективні при гострому болю, часто виявляються малодієвими для хронічних больових станів. Також наявні методи знеболення часто пов'язані з побічними ефектами, особливо при тривалому застосуванні. Розуміння фізіології структур, що регулюють біль, є критично важливим для розроблення більш безпечних і ефективних терапевтичних засобів.

Дія низхідних систем спинного мозку є ключовим механізмом ендогенного контролю болю, однак детальна картина цих механізмів залишається невідомою, особливо у відношенні пластинки Х, що відповідає за вісцеральну ноцицепцію. Вивчення таких механізмів є необхідною базою для розробки більш ефективних і прицільних стратегій лікування хронічного болю, з урахуванням складної та мультифакторної природи цієї патології.

Таким чином, дисертаційна робота розкриває фундаментальні аспекти нейрофізіології больових систем, надаючи теоретичну та практичну основу для подальших досліджень та розробки потенційних клінічних застосувань для терапії складних больових станів.

Наукова новизна отриманих результатів, їх теоретична та практична значущість

Дисертація демонструє значну наукову новизну як у методологічному, так і у змістовному аспектах. Дисертантом розроблена оригінальна методика експресії каналородопсину II типу (ChR2) у нейронах РВДМ із подальшою селективною фотостимуляцією низхідних аксонів у ex-vivo препараті цілого спинного мозку. Використання цілого препарату є суттєвою перевагою розробленої методики, оскільки зберігає інтактними дендритні та аксональні дерева спинномозкових нейронів, зберігає складну структуру нейронних мереж спинного мозку, та дозволяє досліджувати взаємодії між просторово рознесеними структурами. Поєднання оптогенетики з петч-клемп реєстраціями вперше дозволило селективно активувати конкретну популяцію низхідних волокон і одночасно реєструвати їхні функціональні ефекти на окремих нейронах.

За допомогою розробленої методики було продемонстровано, що активація низхідних аксонів від РВДМ пресинаптично контролює як збуджувальні, так і гальмівні входи до нейронів пластинки I. Також виявлено, що активація низхідних аксонів від РВДМ спричиняє як моносинаптичні, так і полісинаптичні гальмівні відповіді у нейронах пластинки I. Виявлення полісинаптичних гальмівних ефектів указує на можливе існування раніше не охарактеризованої субпопуляції збуджувальних нейронів РВДМ, що проєктуються у спинний мозок.

Для десятої пластинки вперше було показано, що активність нейронів ноцицептивних мереж у цій зоні майже повністю контролюється низхідними шляхами у складі задньобічного канатика (ЗБК), при цьому модуляторна дія цих шляхів залежить від частоти та тривалості активності. Цей результат має важливе значення для розуміння того, як центральна нервова система може регулювати вісцеральну та глибоку соматичну ноцицепцію.

Показано, що декілька нейромодуляторів – норадреналін, допамін, серотонін та ендogenous опіоїди – конвергентно залучені до пресинаптичного інгібування первинних аферентів. Це свідчить про складну координацію різних нейрохімічних систем у здійсненні низхідної модуляції.

Загалом дисертаційна робота результативно демонструє, що низхідна регуляція ноцицепції є надзвичайно точним механізмом, здатним до диференціальної модуляції різних частин спинномозкових мереж. Це дозволяє розглядати низхідні шляхи регуляції болю зручною мішенню для розробки нових терапевтичних підходів до знеболення. Глибоке розуміння синаптичних та нейрохімічних механізмів ендogenous контролю болю є першим кроком до розроблення більш спеціалізованих препаратів для лікування різних типів болю. Це підкреслює не лише теоретичне, а й практичне значення даної роботи.

Отже, робота має як фундаментальне значення для науки, так і прикладний потенціал для медицини.

Обґрунтованість та достовірність наукових положень й висновків

Дисертаційна робота Івана Блащака виконана на високому методичному рівні. Дисертант послідовно використовує декілька підходів для підтвердження основних висновків. Робота поєднує електрофізіологічні (петч-клемп реєстрації, реєстрація потенціалу дорзального корінця), оптогенетичні,

фармакологічні та мікроскопічні методи. Усі застосовані методики, є відтворюваними та детально описані у відповідному розділі дисертації.

Положення та висновки, отримані автором у процесі дослідження, належним чином аргументовані та науково обґрунтовані. Експерименти проводились на достатній кількості тварин та клітин. Для усіх серій експериментів наведено не лише числові значення порівнюваних параметрів, а й наведено репрезентативні реєстрації. Результати групових порівнянь підкріплено відповідними статистичними тестами, що підтверджують значущість спостережуваних ефектів.

Отримані результати про пре- та постсинаптичні механізми низхідної регуляції, вплив нейромодуляторів (норадреналіну, допаміну, серотоніну, опіоїдів) на пресинаптичне інгібування узгоджуються з уже відомими з літератури даними та розширюють існуючі знання.

Наведені у дисертації результати та висновки пройшли належну апробацію – їх було представлено на дев'яти конференціях, серед яких – міжнародні форуми FENS та Society for Neuroscience.

Таким чином, достовірність висновків не викликає сумнівів, а обґрунтованість експериментальних положень відповідає високим вимогам сучасної нейрофізіології.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Робота виконана в рамках наукової тематики відділу біофізики сенсорної сигналізації Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України (0124U001557). Дисертант входить до колективів двох грантів дотичних до дисертаційного дослідження: «Роль системи комплементу у спинальних механізмах хронічного болю» (грант від Національного Інституту Здоров'я, США), 2019-2025, номер проекту 5R01NS113189-05, та «Роль TRP каналів у

вісцеральній ноцицепції та порушенні скоротливої активності гладеньких м'язів, викликаной дією загальних анестетиків», 0122U002126, 2022-2023.

Структура, обсяг та повнота викладення матеріалів дисертаційної роботи

Обсяг дисертації становить 164 сторінки; робота складається з анотації, змісту, списку умовних скорочень, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів, результатів, обговорення результатів досліджень і висновків. Робота містить 69 рисунків, та список використаних джерел на 142 найменування.

Зауваження та запитання до дисертаційної роботи

Позитивно оцінюючи роботу Блащак Івана, слід висловити деякі дискусійні зауваження:

1. Матеріали роботи переконливо демонструють значну роль ЗБК у контролі входів до пластинки Х. Водночас було б корисно коротко окреслити можливі альтернативні або компенсаторні механізми на рівні спинного мозку, які теоретично можуть активуватись при зниженні активності ЗБК.
2. Оптогенетична методика, запропонована автором, є дуже перспективною. Разом з тим, задля повноти опису потенційно варто зазначити можливі технічні обмеження зокрема, щодо впливу товщини тканини та дифузії світла.
3. Було б цікаво доповнити роботу коротким коментарем щодо того, як частотно-залежні ефекти ЗБК можуть проявлятися *in vivo*.

Запитання:

1. Чи розглядалися можливі механізми локальної компенсації у спинному мозку у випадку часткового пригнічення активності ЗБК?

2. Наскільки, на Ваш погляд, інтенсивність чи тривалість оптогенетичної стимуляції РВДМ-аксонів може мати адаптивні ефекти на синаптичну відповідь?
3. Чи плануєте Ви застосувати розроблену методику для дослідження низхідної модуляції в умовах патологічного болю (наприклад, запальних або нейропатичних моделей), що могло б суттєво розширити практичне значення роботи?

Висловлені зауваження і запитання не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи, вони мають лише дискусійний або уточнювальний характер.

Загальний висновок офіційного рецензента

Дисертаційна робота є завершеним науковим дослідженням високого рівня, що вирішує важливу наукову проблему – визначення синаптичних механізмів низхідної модуляції ноцицептивних зон спинного мозку. Робота характеризується високою актуальністю, містить значну наукову новизну, теоретичну та практичну цінність, а отримані результати є достовірними та належно обґрунтованими.

Дисертаційна робота Блащак 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, затвердженими 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.

Рецензент

провідний науковий співробітник
відділу цитології
Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця
НАН України,
доктор біологічних наук



Ірина ЛУШНІКОВА

