

РЕЦЕНЗІЯ

кандидата біологічних наук, старшого наукового співробітника

відділу фізіології нейронних мереж

Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України

Думанської Ганни Валентинівни

на дисертаційну роботу

Блащака Івана Олександровича

«Низхідна модуляція активності нейронів

ноцицептивних мереж спинного мозку»

виконану на здобуття ступеня доктора філософії

в галузі знань 09 «Біологія»

за спеціальністю 091 «Біологія»

Актуальність теми дисертаційної роботи

Дисертаційна робота присвячена вивченню механізмів низхідної модуляції активності нейронів ноцицептивних мереж спинного мозку. Проблема ноцицепції — сприйняття та передачі больових сигналів — посідає одне з центральних місць у сучасній нейронауці. Біль є не лише важливим фізіологічним механізмом захисту організму, але й одним із найпоширеніших патологічних симптомів, що супроводжує широкий спектр захворювань. Особливої медико-соціальної значущості набуває хронічний біль, який втрачає біологічну доцільність і суттєво знижує якість життя пацієнтів.

Одним із ключових елементів контролю больових сигналів є низхідна модуляція, яка регулює інтенсивність та характер передачі ноцицептивної інформації. Відомо, що зокрема ростральна вентромедіальна зона довгастого мозку (РВДМ) відіграє провідну роль у регуляції болю. Проте на клітинному рівні механізми впливу РВДМ на нейрони ноцицептивних зон спинного мозку залишаються недостатньо з'ясованими.

Саме тому, представлена робота є актуальною як у фундаментальному, так і у прикладному аспектах, оскільки спрямована на поглиблення розуміння клітинних та синаптичних механізмів низхідної модуляції нейронних мереж ноцицептивних зон спинного мозку, а саме на визначення ролі проєкцій РВДМ до пластинок І та Х спинного мозку у реалізації гострого та хронічного болю, що має безпосереднє значення для розробки нових стратегій лікування хронічного болю та нейропатичних синдромів.

Наукова новизна отриманих результатів, їх теоретична та практична значущість

У дисертаційній роботі вперше здійснено детальний аналіз на клітинному рівні низхідної модуляції соматосенсорної та вісцеральної ноцицепції у першій та десятій пластинках спинного мозку та описано потужний контроль нейронних мереж спинного мозку за допомогою одночасного пре- та постсинаптичного інгібування активністю низхідних шляхів. Автором розроблено та впроваджено нову методику, що поєднує селективну оптогенетичну активацію аксонів та терміналей нейронів РВДМ, із цілостними *ex vivo* електрофізіологічними записами (whole-cell patch clamp) з нейронів ноцицептивних пластин спинного мозку, доповненими електричною стимуляцією дорсальних корінців, яка дозволяє досліджувати як пресинаптичні, так і постсинаптичні механізми низхідної модуляції больових сигналів з винятковою просторовою та функціональною точністю. Запропонована комбінація трьох підходів є оригінальною та має потенціал для застосування в інших лабораторіях.

Вперше продемонстровано, що активація низхідних волокон від РВДМ викликає моно- та полісинаптичні гальмівні відповіді в нейронах пластинки І, а також здійснює пресинаптичну регуляцію збуджувальних і гальмівних входів. Також автором доведено, що активність низхідних шляхів у складі

задньобічного канатика (ЗБК) майже повністю контролює активність нейронів пластинки Х, а характер модуляції залежить від частоти та тривалості стимуляції. Показано, що нейромедіатори низхідних шляхів у спинному мозку — норадреналін, допамін, серотонін та ендогенні опіоїди — конвергентно беруть участь у пресинаптичному інгібуванні первинних аферентів.

Практична значущість дослідження полягає у можливості використання отриманих результатів для розробки нових фармакологічних стратегій лікування хронічних больових синдромів. Розроблена дисертантом комп'ютерна програма для автоматичного аналізу та візуалізації даних мініатюрної синаптичної активності має універсальне застосування у нейрофізіологічних дослідженнях.

Обґрунтованість та достовірність наукових положень і висновків

Обґрунтованість результатів базується на використанні комплексу сучасних методів — опто- та хемогенетичних, електрофізіологічних та фармакологічних з високою технічною точністю. Дослідження виконані на належному методичному рівні, з ретельним контролем експериментальних умов і достовірною статистичною обробкою результатів. Автор використав наступні методи: виділення препарату цілого спинного мозку мишей, виділення препарату цілої половини спинного мозку щурів, стереотаксичні ін'єкції генетичних конструктів, лазерна конфокальна флуоресцентна мікроскопія, фотостимуляція каналородопсин-експресуючих клітин (оптогенетика), реєстрація потенціалу дорзального корінця, петч-клемп реєстрації в конфігурації «ціла клітина», електрична стимуляція корінців та низхідних трактів, методика бічного інфрачервоного освітлення, статистичні методи: непараметричні тести Манна-Вітні або Колмогорова-Смірнова, тест Шاپіро-Вілка, t-тест Стюдента, точний тест Фішера. Кожне наукове положення дисертації підкріплене експериментальними даними та

підтверджені публікаціями у міжнародних і фахових виданнях, а також доповідями на провідних наукових конференціях, що свідчить про надійність і визнання результатів науковою спільнотою. Матеріал викладено логічно, послідовно, з глибоким аналізом отриманих даних. Ілюстративний матеріал є інформативним, що підвищує якість сприйняття результатів.

Результати подано з належною аргументацією, інтерпретацією та знанням сучасної літератури, що свідчить про глибоку проінформованість та наукову зрілість здобувача.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Робота виконана в рамках наукової тематики відділу молекулярної біофізики (з 23. 10. 2023 р. – відділу біофізики сенсорної сигналізації) Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України:

- «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; № 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

Дисертація викладена українською мовою на 164 сторінках, містить 69 ілюстрацій і 142 джерела літератури. Структурно робота складається з анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів, результатів, обговорення результатів дослідження та висновків і списку використаних джерел.

Зауваження та запитання до дисертаційної роботи

Роботу виконано на високому технічному рівні, із застосуванням сучасних методик, які є адекватними до поставлених задач. Оцінюючи роботу Івана Блащака позитивно, водночас варто окреслити кілька дискусійних зауважень:

1. В роботі спостерігається певна мовна неоднорідність: текст дисертації подано українською мовою, тоді як підписи до рисунків містять як українські, так і англійські елементи. У тексті час від часу зустрічаються описки та вживання англійських аббревіатур.
2. На окремих рисунках розмір шрифту підписів є надто малим, що ускладнює або робить неможливим їх прочитання.
3. У деяких серіях експериментів не зазначено кількість клітин на яких було зареєстровано ефекти; доцільно було б вказати ці дані для всіх експериментальних серій та додати кількість використаних тварин.
4. В роботі некорректно використовується термін мініатюрні постсинаптичні струми (мПСС). В класичному розумінні мПСС реєструються в номінально безкальцієвому розчині в присутності ТТХ, тоді як в дослідженнях використовували 2 мМ іонів кальцію в позаклітинному розчині.
5. В роботі не зазначено концентрації норадреналіну, серотоніну, допаміну та DAMGO, використаних у дослідях.

Запитання:

1. Який був відсоток вдалої експресії цільового білка після стереотаксичних ін'єкцій оптогенетичного конструкту?
2. Чи могли б Ви уточнити, чи проводилася реєстрація мініатюрної постсинаптичної активності нейронів пластинки X у безкальцієвому розчині та в присутності ТТХ? Саме за таких умов імовірність вивільнення нейромедіатора є мінімальною та фіксованою, що й дозволяє коректно інтерпретувати зміни амплітуд мініатюрних подій як ознаку залучення постсинаптичних механізмів.
3. Яка, на Вашу думку, можлива фізіологічна інтерпретація відмінностей в інтенсивності інгібуючої дії ростральної вентродіальної зони довгастого мозку на функціонально різні входи від первинних аферентів?

Зазначені зауваження та запитання мають дискусійний та уточнюючий характер і не знижують наукової цінності та позитивної оцінки дисертаційної роботи.

Загальний висновок рецензента

Дисертаційна робота Івана Олександровича Блащака є самостійним завершеним науковим дослідженням. Отримані результати мають істотне значення для розвитку нейрофізіології болю та можуть бути використані для вдосконалення методів терапії хронічних больових станів. За своєю актуальністю, методичним рівнем, обсягом досліджень, фундаментальним та прикладним значенням дисертаційна робота повністю відповідає всім Постанови Кабінету міністрів України № 44 вимогам від 12 січня 2022 р. "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 (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, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії у галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

Рецензент

кандидат біологічних наук,
старший науковий співробітник
відділу фізіології нейронних мереж
Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця
НАН України

Ганна ДУМАНСЬКА

