

ВІДГУК

ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

на дисертаційну роботу *Думанської Ганни Валентинівни «Синаптична передача між гангліозними клітинами сітківки та нейронами *colliculus superior* в кокультурі в нормі та при гіпоксії»*, представлену на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.02 – біофізика

Актуальність обраної теми. Дисертація Думанської Г.В. присвячена дослідженню синаптичної передачі в первинних контактах аферентних проєкцій сітківки в підкорковий зоровий центр на окремих парах кокультивованих гангліозних клітин сітківки (ГКС) та нейронів *colliculus superior* (CS) в нормі та при гіпоксії. Дані первинні синапси представляють собою перші переключення на шляху передачі та обробки аферентних зорових сигналів. Відомо, що тканинам сітківки та підкоркових структур зорового аналізатора притаманна висока чутливість до дефіциту кисню, тому визначення характеристик нейропередачі в цих контактах за контрольних та гіпоксичних умов представляє великий інтерес для нейрофізіології в цілому.

В якості об'єкту дослідження автором запропоновано використання кокультури дисоційованих клітин сітківки та нейронів CS щура, яка здатна відтворювати властивості першої функціональної ланки передачі зорової інформації від сітківки в ЦНС. Використання сучасного електрофізіологічного методу парного відведення струмів та потенціалів у парах синаптично зв'язаних ГКС та нейронів CS дають можливість суттєво розширити уявлення про характер та типи нейропередачі в даних синапсах. В дисертації проводиться ідентифікація нейротрансмітерів, що опосередковують нейропередачу між ГКС та нейронами CS, з'ясовується квантова природа вивільнення нейромедіаторів, визначаються властивості короткочасної пластичності нейропередачі при парній стимуляції та досліджуються характеристики індукованих гіпоксією змін ефективності збуджувальної та гальмівної синаптичної передачі.

В роботі чітко визначені етапи досліджень, використовуються адекватні методичні підходи, обговорення і висновки повною мірою відображають отримані результати.

Наукова новизна, теоретичне та практичне значення отриманих результатів дослідження. Вперше розроблено метод кокультивування дисоційованих клітин сітківки та нейронів *CS*. Охарактеризовано типи збуджувальної та гальмівної нейропередачі в даних синапсах та фармакологічно ідентифіковано субпопуляції постсинаптичних рецепторів, що їх опосередковують. Досліджено властивості квантового вивільнення нейромедіаторів та характеристики короткотривалої пластичності при парній стимуляції. Вперше досліджено індуковану гіпоксією пластичність синаптичної передачі в синаптично зв'язаних парах ГКС – нейрон *CS* та оцінено ймовірні пре- та постсинаптичні механізми синаптичної пластичності, зумовленої дефіцитом кисню. Виявлено індуковану гіпоксією довготривалу потенціацію НМДА-рецепторопосередкованої передачі в синаптично зв'язаній парі ГКС — нейрон *CS*, пов'язану з ослабленням магнієвого блоку даних рецепторів та ймовірним збільшенням загальної кількості сайтів вивільнення в активних синапсах. Показано індуковане гіпоксією пригнічення АМПА-рецепторопосередкованої синаптичної передачі, що реалізується за рахунок пресинаптичних механізмів. Охарактеризовано індуковану гіпоксією довготривалу депресію ГАМК-ергічної нейропередачі між ГКС та нейронами *CS*, що пов'язана як зі зменшенням кількості діючих сайтів вивільнення, так і зі зменшенням чутливості постсинаптичної мембрани до трансмітера. Описана депресія ГАМК-ергічної синаптичної передачі розглядається як додатковий механізм пошкоджуючої дії гіпоксії, оскільки фізіологічна роль гальмівної передачі в даних синапсах полягає в контролі збудження та пластичності глутаматергічної, зокрема НМДА-опосередкованої нейропередачі.

Отримані результати мають як фундаментальне, так і практичне значення, оскільки не тільки доповнюють сучасні уявлення про функціонування первинних аферентних синапсів зорової системи в нормі та при гіпоксії, а і формують необхідну

інформаційну базу для пошуку та розробки терапевтичних підходів в лікуванні та корекції обумовлених дефіцитом кисню порушень зору.

Ступінь обґрунтованості і достовірності наукових досліджень і висновків, що сформульовані в дисертації. Результати дисертаційної роботи отримані із використанням сучасних методів нейрофізіології. Усі експерименти виконані на високому науковому рівні із використанням складних систем реєстрації і обробки нейронних сигналів. Результати базуються на достатній кількості спостережень і є статистично достовірними. Автор виносить на захист 5 основних положень дисертації. Вони конкретні, науково-значимі і відображають всі аспекти виконаної роботи. Таким чином, результати й висновки, які викладені в дисертації, є обґрунтованими і логічними.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, тезами. Роботу виконано у відділі фізіології нейронних мереж Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України в рамках наукових проектів «Клітинні механізми реалізації функціональних особливостей нейронів центральної та периферичної нервових систем ссавців» (державний реєстраційний номер № 0113U007274) і «Функціональна геноміка міжнейронної взаємодії та субнейронних процесів за нормальних та патологічних умов» (державний реєстраційний номер № 0112U001476).

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота Думанської Г.В. оформлена у повній відповідності до вимог МОН України на 130 сторінках. Робота включає в себе вступ, огляд літературних даних, матеріалів і методів досліджень, опис результатів досліджень, обговорення результатів досліджень, висновки та список цитованої літератури (257 найменувань). Отримані результати ілюстровані 33 рисунками.

У вступі обґрунтовано проблематику дослідження нейропередачі в первинних синапсах аферентних проєкцій ГКС в CS, сформульовано актуальність і важливість дослідження, мета та завдання дослідження, підкреслено новизну роботи та визначено особистий внесок здобувача, вказано апробацію результатів дисертації і публікації.

В огляді літературних даних автор описує сучасні уявлення щодо досліджуваної проблематики. Особливу увагу приділено відомостям про нейропередачу в синапсах ГКС на нейронах CS. Наведено інформацію про структуру сітківки та CS, висвітлено функції в передачі зорової інформації ГКС та нейронів CS ссавців. Охарактеризовані типи гіпоксії, дегенеративні захворювання зорової системи, що супроводжуються станом гіпоксії, та описані сучасні уявлення про механізми гіпоксичних уражень сітківки та ГКС.

В розділі «Матеріали та методи досліджень» вичерпно викладено опис електрофізіологічних, біохімічних, фармакологічних та статистичних методів дослідження. Обґрунтовано також вибір об'єкта досліджень.

В розділі «Результати досліджень» визначені і кількісно охарактеризовані властивості синаптичної передачі від окремих синаптично зв'язаних пар ГКС – нейрон CS в умовах кокультивування. Встановлено, що в даних первинних синапсах зорової системи глутаматергічна нейропередача опосередкована активацією постсинаптичних НМДА- та АМПА-рецепторканалних комплексів. Гальмівна нейропередачі реалізується завдяки вивільненню ГАМК та активацією ГАМК_A-рецепторканалних комплексів на постсинаптичній мембрані нейрону CS. Визначено характеристики квантового вивільнення глутамата та ГАМК. Описано короточасну депресію глутаматергічної та потенціацію ГАМК-ергічної синаптичної передачі між ГКС та нейронами CS при парній стимуляції. Вперше описано наявність феноменів індукованих гіпоксією змін ефективності синаптичної передачі в окремих парах ГКС – нейрон CS. Зокрема описано параметри та механізми довготривалої потенціації НМДА-рецепторопосередкованої передачі та депресії ГАМК_A-рецепторопосередкованої передачі.

В заключному розділі обговорюються отримані результати щодо відомостей про синаптичну передачу, пластичність та механізми, що її опосередковують.

Висновки дисертаційної роботи складаються з п'ятиох чітких положень, що підсумовують та узагальнюють отримані результати досліджень.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях та авторефераті. Матеріали дисертаційної роботи були опубліковані у 5 статтях в наукових фахових журналах, одному патенті України на корисну модель та 9 тезах доповідей у матеріалах вітчизняних і міжнародних наукових конференцій та з'їздів. Опубліковані праці свідчать про повноту викладу наукових положень та висновків, сформульованих у дисертації. Автореферат повністю відображає основний зміст дисертації.

Позитивно оцінюючи роботу Думанської Г.В., слід висловити деякі дискусійні питання та зауваження:

1. Відомо, що ГКС поділяюся на типи за своїми вихідними проекціями, відповідні типи ГКС надсилають свої проекції до відповідних первинних підкоркових структур, тоді як в кокультурі ГКС мають змогу утворювати синаптичні контакти лише з нейронами *colliculus superior*. Чи враховували Ви цей факт, і чи не буде він впливати на висновки дисертаційної роботи?

2. Відомо, що гіпоксичні ураження сітківки призводять до сповільнення натрійзалежного захоплення глутамата ГКС та клітинами Мюлера, а інколи до вивільнення захопленого глутамата, деполяризацією цих клітин за умов дефіциту кисню. На мою думку, доцільним було б залучення до електрофізіологічних досліджень нейропередачі за контрольних та гіпоксичних умов, моніторинг концентрації глутамату, так як саме він відіграє провідну роль в розвитку феномену ексайтотоксичності, як механізму вторинного ушкодження нервової тканини.

3. Відомо, що зрілі ГКС високочастотно генерують потенціали дії, результати ваших досліджень короткотривалої пластичності свідчать, що глутаматергічна передача депресується, тоді як ГАМК-ергічна – потенціюється. Чи властиво це даному об'єкту *in vivo*?

Висловлені зауваження не знижують високий рівень дисертаційної роботи. Старанність виконання експериментальної роботи, критичний аналіз її

результатів, зіставлення із сучасними літературними даними дозволяють високо оцінити дисертаційну роботу Думанської Г.В.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

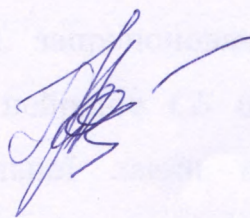
Завершуючи оцінку роботи, хочу ще раз підкреслити її актуальність і сучасність. Згідно з пунктами: 9, 11, 12, 13 “Порядку присудження наукових ступенів”, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24 липня 2013 р. (зі змінами), вважаю, що за своєю актуальністю, науковою новизною, методичним рівнем, теоретичною та практичною значністю, об'ємом досліджень, обґрунтованістю висновків дисертаційна робота Думанської Ганни Валентинівни «Синаптична передача між гангліозними клітинами сітківки та нейронами colliculus superior в кокультурі в нормі та при гіпоксії» відповідає всім вимогам до дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата наук, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю – 03.00.02.

Офіційний опонент:

завідувач відділу нейрохімії

Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна

доктор біологічних наук, професор



Борисова Т. О.



Борисовой Т.О.
ЗАСВІДЧУЮ
Зав. канцелярією
Інституту біохімії ім. О.В.Палладіна
національної академії наук України
"06" 09 2016 р.