

ВІДГУК

ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

на дисертаційну роботу *Колесник Оксани Павлівни* «Регуляція короткотривалої пластичності ГАМК-ергічної синаптичної передачі між нейронами гіпокампа», представлену на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.02 – біофізика

Актуальність обраної теми. Дисертація Колесник О.П. присвячена дослідженню особливостей короткотривалої пластичності синаптичної передачі в ГАМК-ергічних синапсах. Дослідження принципів та механізмів модуляції пластичності саме гальмівної синаптичної передачі є важливими у зв'язку з її винятковою роллю у роботі центральної нервової системи. В гіпокампі зміни в ефективності синаптичної передачі лежать в основі процесів навчання, формування пам'яті, а також відновлення нервової діяльності після травм і хвороб головного мозку. Тому визначення характеристик та механізмів кальційзалежної регуляції пластичності синаптичної передачі між нейронами гіпокампа є одним із актуальних завдань сучасної нейрофізіології.

В якості об'єкту дослідження автором запропоновано використання культури дисоційованих нейронів гіпокампа, яка здатна адекватно відтворювати властивості передачі інформації між нейронами в гіпокампі. Для реєстрації викликаних гальмівних постсинаптичних струмів з соми постсинаптичного нейрона були застосовані методика фіксації потенціалу в конфігурації «ціла клітина» та локальна зовнішньоклітинна стимуляція аксона пресинаптичного нейрона. В дисертації проводиться ідентифікація механізмів, що опосередковують депресію та полегшення при парній стимуляції, визначаються квантові показники, які характеризують вивільнення ГАМК та досліджуються характеристики частотної модуляції при пластичності нейропередачі, оцінюється роль кальцієвого депо та внесок високопорогових кальцієвих каналів в регуляцію короткотривалої пластичності нейропередачі.

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. У дисертаційній роботі досліджені і кількісно охарактеризовані властивості короткотривалої пластичності ГАМК-ергічної синаптичної передачі між культивованими нейронами гіпокампа та механізми її регуляції. Встановлено, що короткотривала депресія та полегшення при парній стимуляції, обумовлені переважно пресинаптичними механізмами. Вперше був проведений детальний аналіз квантових показників ГАМК-ергічної синаптичної передачі одночасно для депресії і полегшення при парній стимуляції. Вперше визначено, що тільки P/Q- та N-типи кальцієвих каналів беруть участь у модуляції короткотривалої пластичності ГАМК-ергічної передачі. Вперше доведено, що кальцієва АТФаза пресинаптичного ендоплазматичного ретикулула не задіяна в цьому процесі.

Отримані результати мають як фундаментальне так і практичне значення оскільки не тільки доповнюють сучасні уявлення про регуляцію короткотривалої пластичності ГАМК-ергічної синаптичної передачі, а і формують необхідну інформаційну базу для пошуку та розробки терапевтичних підходів в лікуванні хвороб, що порушують нормальний розвиток та функціонування ЦНС.

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 «Дослідження збуджуючої та гальмівної синаптичної передачі центральних та периферичних нейронів в залежності від функціональних властивостей їх пре- та постсинаптичних мембран» (державний реєстраційний номер теми: 0105U003232) та «Участь хемо- та потенціалкерованих каналів у зміні внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} центральних та периферичних нейронів в умовах наявності синаптичних зв'язків» державний реєстраційний номер теми: 0108U003919).

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота Колесник О.П. оформлена у повній відповідності до вимог МОН України на 138 сторінках. Робота включає в себе вступ, огляд літературних даних, матеріалів і методів досліджень, опис результатів досліджень, обговорення результатів досліджень, висновки та список цитованої літератури (233 найменувань) та додаток. Отримані результати ілюстровані 29 рисунками та 3 таблицями.

У вступі обґрунтовано проблематику дослідження короткотривалої ГАМК-ергічної пластичності синаптичної передачі між нейронами гіпокампа, сформульовано актуальність і важливість дослідження, мета та завдання дослідження, підкреслено новизну роботи та визначено особистий внесок здобувача, вказано апробації і публікації за результатів дослідження.

В огляді літературних даних автор описує сучасні уявлення досліджуваної проблематики. Наведено інформацію про структуру та функції ГАМК-рецепторів, охарактеризовані такі процеси, як квантове вивільнення нейромедіатора та пластичність синаптичної передачі, наведені відомості про потенціалкеровані кальцієві канали і їх фармакологічні та кінетичні характеристики, наведена інформація про структуру ендоплазматичного ретикулума та його роль у якості кальцієвого депо.

В розділі «матеріали та методи досліджень» вичерпно викладено опис електрофізіологічних, фармакологічних та статистичних методів дослідження.

В розділі «результати досліджень» охарактеризовані властивості та кінетичні параметри гальміної синаптичної передачі, яка опосередкована активацію постсинаптичних ГАМК_A-рецепторів. Визначено відмінність в характеристиках квантового вивільнення ГАМК та описано динаміку відновлення при депресії та полегшення при парній стимуляції. Визначено типи високопорогових кальцієвих каналів, які здатні моделювати короткотривалу пластичність нейропередачі та оцінено внесок кожного з каналів у цей процес. Досліджена можлива роль кальцієвої АТФази ендоплазматичного ретикулума у підсиленні або послабленні ефективності синаптичної передачі.

В заключному розділі обговорюються отримані результати щодо відомостей про механізми, що опосередковують та модулюють короткотривалу пластичність синаптичної передачі.

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

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях та авторефераті. Матеріали дисертаційної роботи були опубліковані у 6 статтях в наукових фахових журналах та 8 тезах доповідей у матеріалах вітчизняних і міжнародних наукових конференцій та шкіл. Опубліковані праці свідчать про повноту викладу наукових положень та висновків, сформульованих у дисертації. Автореферат повністю відображає основний зміст дисертації.

Позитивно оцінюючи роботу Колесник О.П., слід висловити деякі дискусійні питання та зауваження:

1. Для ідентифікації типу іонів, які опосередковують викликані гальмівні постсинаптичні струми було застосовано аплікацію селективного антагоніста ГАМК_A-рецепторів бікукуліну метоброміду в концентрації 20 мкмоль/л, яка на 91 % пригнічувала амплітуду струмів. Чи можна стверджувати, що залишковий струм – це не до кінця заблоковані ГАМК-рецептори чи може це струм, який опосередкований гліциновими рецепторами?

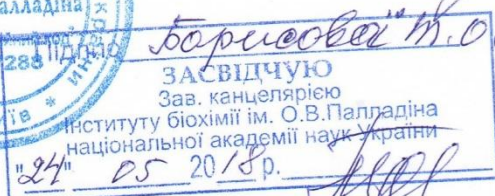
2. Відомо, що однією з форм короткотривалої пластичності нейропередачі є депресія та полегшення при парній стимуляції. В даній роботі окремо для депресії та полегшення були визначені зміни в квантових показниках, описані динаміки відновлення цих процесів, визначені дії блокаторів кальцієвої АТФази. Проте при дослідженні внеску та ролі різних типів високопорогових кальцієвих каналів такого поділу не було зроблено. Чим це можна пояснити?

3. Відомо, що існують експериментальні дані, які вказують, що кальцій, який вивільнюється з внутрішньоклітинного депо бере участь у регуляції довготривалої пластичності синаптичної передачі. Проте за результатами даної роботи можна зробити висновок, що у регуляції саме короткотривалої пластичності кальцієва АТФаза не задіяна. На мою думку, доцільним було б більш детально описати в обговоренні час та можливі механізми впливу АТФази ендоплазматичного ретикулума на депресію та полегшення.

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 Колесник О.П.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам. Завершуючи оцінку роботи, хочу ще раз підкреслити її актуальність і сучасність. Дисертаційна робота Колесник Оксани Павлівни «Регуляція короткотривалої пластичності ГАМК-ергічної синаптичної передачі між нейронами гіпокампа», є закінченим науковим дослідженням, що має як теоретичне, так і практичне значення і 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 – біофізика.

Доктор біологічних наук, професор
Завідувач відділу нейрохімії
Інституту біохімії імені О.В. Палладіна
НАН України



Т. О. Борисова