

АНДАТПА

8D05101 – «Биология» білім беру бағдарламасы бойынша философия докторы (Ph.D.) ғылыми дәрежесін алу үшін дайындалған диссертация

Қайрат Бақытжан Қайратұлы

“Гиппокампынң нейрондық желісінің қозуын бақылауда тежегіш нейрондардың кальций-өткізуші каинатты және

AMPA рецепторларының рөлі”

Жұмыстың жалпы сипаттамасы. Жұмыс гиппокамп нейрондық желісіндегі қозуды бақылауда тежегіш нейрондардың кальций-өткізуші каинатты және AMPA-рецепторларының рөлін зерттеуге арналған.

Зерттеліп отырған мәселенің қазіргі күйіне баға беру. Нейрондар желісіндегі гиперқозу эпилепсияда, инсульттің бастапқы кезеңінде және басқа да нейродегенеративті бұзылыстарда пайда болады. Ұзаққа созылған гиперқозу нейрондардың өліміне алып келеді. *In vitro* жағдайында нейрондық желінің гиперқозуын әртүрлі физиологиялық әдістермен тудыруға болады: KCl түрлі концентрацияларын қолдану арқылы нейрондардың жалпы деполяризациясы; NMDA-рецепторларындағы блокты жою үшін ортаның құрамынан Mg^{2+} иондарын алып тастау; цАМФ жасушаішілік концентрациясын жоғарылататын қосылыстарды қолдану; аммиактың жоғары концентрациясымен әсер ету; рецепторлардың ГАМК(A)-тәуелді тежелу әсерін жою. Мұндай әсерлер нейрондардың жоғары жиіліктегі синхронды импульстік белсенділігін тудырады. Бұл белсенділік бастапқы кезеңде глутаматтық рецепторлар мен потенциал-тәуелді Ca^{2+} -каналдарының бейімделу және прекоңдициялау процестерін индукциялайды, ал ұзақ мерзімді әсері нейрондардың өліміне себеп болады. Әртүрлі экзогенді қосылыстар арқылы алдын ала активтендіруге болатын эндогенді бейімделу механизмдерін гиперқозуды басу үшін қолдану тиімдірек. Гиперқозуды басу механизмдерінің бірі – кальций-өткізуші каинатты және AMPA-рецепторлары бар тежегіш нейрондардың ерекше субпопуляцияларының селективті активаторларын қолданумен байланысты. Бұл нейрондар гиперқозуға жедел жауап беріп, γ -амин май қышқылының (ГАМК) күшейтілген секрециясы арқылы нейрондық белсенділікті тежейді.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі. Гиппокамп — лимбиялық жүйенің орталық бөлігі, ол жадты шоғырландыру (қысқа мерзімді жадтың ұзақ мерзімді жадқа ауысу үдерісі), кеңістіктік жадты қалыптастыру, сондай-ақ эмоциялардың қалыптасу үдерістерінде маңызды рөл атқарады. Гиппокамптағы нейрондардың екі негізгі түрі белгілі — қоздырғыш пирамидалық нейрондар мен тежегіш интернейрондар. Көп жағдайда гиппокамп интернейрондары ГАМК-ергиялық сипатта болып келеді және мидың негізгі тежегіш нейротрансмиттері — ГАМК секрециялайды. Қазіргі таңда гиппокампта интернейрондардың 20-дан астам субтиптері анықталған, олар морфологиясы, физиологиясы және ген экспрессиясы бейіндері бойынша ерекшеленеді. Бұл интернейрондар пирамидалық нейрондардың белсенділігін реттейді және ақпаратты өңдеудің барлық кезеңдерінде маңызды рөл атқарады.

ГАМК-ергиялық жүйе қызметінің бұзылуы нейродегенеративті бұзылыстардан психикалық ауруларға дейінгі мидың түрлі ауруларының дамуына алып келеді. Эпилепсия, ишемия, бауыр энцефалопатиясы және ми жарақаты жағдайларында ГАМК-ергиялық нейрондардың жекелеген популяцияларының селективті түрде өлуі байқалады. Бұл ретте көп жағдайда ГАМК-ергиялық нейрондардың субпопуляциялары пирамидалық нейрондарға қарағанда әлдеқайда осал болып келеді. Ұзақ уақыт бойы жүргізілген зерттеулерге қарамастан, әртүрлі патологиялық жағдайлар кезінде ГАМК-ергиялық нейрондардың нақты субпопуляцияларының өлімін анықтайтын механизмдер толық ашылмаған күйінде қалып отыр.

Аталған аурулар кезінде жасушалардың өлуінің негізгі себебі – глутаматтың жасуша сыртындағы концентрациясының жоғарылауымен байланысты туындайтын эксайтоуыттылық әсер. Қазіргі уақытта бұл ауруларды емдеу қоздырғыш рецепторлар мен потенциал-тәуелді каналдардың антагонистерін қолдануға негізделген. Алайда бұл каналдар адам және жануарлар ағзасының көптеген жасушаларында экспрессияланатындықтан, мұндай препараттарды қолдану көптеген жанама әсерлерге алып келеді. Осыған байланысты, жоғарыда аталған ауруларға бағытталған, дәл әсер ететін жаңа терапиялық тәсілдерді әзірлеу жалғасуда.

Селективті әсер ету үшін патологиялық процестер барысында аса осал болатын нейрондардың жекелеген субпопуляцияларын анықтап, сипаттау және олардың өлімінің механизмдерін зерделеу қажет.

Мәселенің зерттелу дәрежесі. Нейрондық желідегі гиперқозу кезінде ГАМК-ергиялық реттелудің әлсіреуінің негізгі себебі ретінде кальций-өткізуші каинатты (CP-KARs) және AMPA-рецепторлары (CP-AMPA-Rs) бар ГАМК-ергиялық нейрондардың зақымдалуы қарастырылады. Бұл рецепторлардың ГАМК-ергиялық нейрондардың мембранасында болуы гиперқозу кезінде Ca^{2+} иондарының қосымша ағынын қамтамасыз етеді, бұл эксайтоуыттылық стресін күшейтіп, аталған нейрондардың селективті өліміне әкелуі мүмкін. Аталған болжам CP-AMPA-Rs тек белгілі бір нейрондық субпопуляциясында, соның ішінде ГАМК-ергиялық нейрондарда ғана экспрессияланатыны туралы деректерге негізделген. Ал CP-KARs тек ГАМК-ергиялық нейрондарда экспрессияланады. Осыған байланысты, бұл кальций-өткізгіш рецепторларды экспрессиялайтын ГАМК-ергиялық нейрондар гиперқозумен сипатталатын патологиялық жағдайлар кезінде ең осал нейрондар қатарына жатады деген тұжырым жасалады.

Зерттеу объектісі. Wistar линиялы жаңа туған егеуқұйрықтардың миынан бөлініп алынған гиппокамп нейрондары мен астроцит жасушаларының бірлескен ко-культурасы.

Зерттеу пәні. Гиппокампының нейрондық желісіндегі қозуды бақылауда тежегіш нейрондарының кальций-өткізуші каинатты және AMPA-рецепторлары рөлі.

Жұмыстың мақсаты мен міндеттері. Диссертациялық жұмыстың мақсаты – гиппокампының нейрондық желісіндегі қозуды бақылауда тежегіш

нейрондарының кальций-өткізуші каинатты және АМРА-рецепторларының рөлін зерттеу.

Аталған мақсатты іске асыру үшін келесі негізгі **міндеттер** қойылды:

1. Кальций-өткізуші каинатты және АМРА-рецепторларды экспрессиялайтын нейрондарды идентификациялау;
2. Кальций-өткізуші каинатты және АМРА-рецепторлардың агонистерін қолдану кезінде кальцийлік жауаптың қалыптасу механизмдерін анықтау;
3. Тежегіш нейрондардың кальций-өткізуші АМРА-рецепторларының эпилептиформды белсенділікті реттеудегі рөлін зерттеу;
4. Нейрондардың глутаматтың жедел эксайтоттылық әсеріне төзімділігін бағалау;
5. Кальций гомеостазының бұзылуына байланысты иондық механизмдерді анықтау. Селективті агонистермен ұзақ мерзімді әсер ету жағдайында жасушаішілік Ca^{2+} , K^{+} , Na^{+} иондары концентрациялары мен рН өзгеру динамикасын зерттеу.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы. Алғаш рет гиппокамп нейрондық желісіндегі қозу мен тежелу теңгерімін сақтауда және тежегіш нейрондар белсенділігін реттеуде кальций-өткізуші каинатты және АМРА-рецепторлардың үлесі кешенді түрде зерттелді. Кальций иондарының каинатты және АМРА-рецепторлар арқылы ағыны тежегіш нейрондардың қозуын модуляциялайтыны, соның ішінде олардың жасушаішілік сигналдық жолдары мен пластикалылығына әсер ететіні анықталды. Сонымен қатар, кальций-өткізуші каинатты және АМРА-рецепторлардың дисфункциясы қозу мен тежелу арасындағы тепе-теңдіктің бұзылуына әкелетіні көрсетілді. Бұл нейрондық желінің гиперқозумен сипатталатын эпилепсия және басқа да нейропатологиялар үшін маңызды.

Зерттеудің теориялық маңыздылығы. Алынған нәтижелер кальций-өткізуші каинатты және АМРА-рецепторларды экспрессиялайтын ГАМК-ергиялық нейрондардың нейрондық желідегі қозуды бақылаудағы рөлі туралы білімімізді кеңейтеді. Гиперқозу мен кальций-өткізгіш рецепторлардың дисфункциясы арасындағы байланысты қамтамасыз ететін анықталған механизмдер эпилепсия мен басқа да нейродегенеративті бұзылыстардың патогенезін түсіну үшін теориялық негіз қалайды. Бұл деректер гиппокампадан тыс мидағы басқа да бөлімдеріндегі нейрондардың түрлі топтарындағы рецепторлардың өзара әрекеттесуін әрі қарай зерттеу үшін негіз бола алады.

Жұмыстың практикалық маңыздылығы. Алынған нәтижелер нейрондық желідегі гиперқозумен байланысты әртүрлі нейродегенеративті бұзылыстарды емдеудің жаңа фармакотерапиялық стратегияларын әзірлеуде қолданылуы мүмкін. Аталған нейрондар популяциясын селективті түрде активтендірудің нейропротекторлық әсері гиперқозумен жүретін эпилепсия, ишемия және басқа да ауруларды емдеуге арналған тиімді жаңа тәсілдерді әзірлеуге негіз бола алады. Диссертациялық жұмыстың нәтижелері «051 – Биология және сабақтас ғылымдар» даярлау бағыты бойынша «Биология», «Биофизика», «Биомедицина» және «Нейроғылым» білім беру

бағдарламаларына арналған арнайы курстарды оқыту барысында пайдаланылуы мүмкін.

Қорғауға ұсынылатын негізгі тұжырымдар:

1. ГАМК-ергиялық нейрондардағы кальций-өткізуші AMPA-рецепторлар эпилептиформды белсенділік кезінде нейрондық желілерде байқалатын пароксизмалдық деполяризациялық ығысу (PDS) кластерлерінің құрылымын реттейді. Бұл реттелу Kv7 типті калий каналдарымен өзара әрекеттесу арқылы жүзеге асады және гиперполяризация фазалары мен кластер ұзақтығын бақылауды қамтамасыз етеді.

2. Кальций-өткізуші каинатты және AMPA-рецепторларын экспрессиялайтын нейрондар эпилептиформды белсенділік жағдайында нейрондық желілердегі қозуды таратуда түйінді рөл атқарады. Бұл рецепторлардың активтенуі басқа ГАМК-ергиялық нейрондардың белсенділігін ГАМК(B)-рецепторлар арқылы Kv7 типті калий каналдарын активтендіріп тежелу арқылы глутаматергиялық нейрондардың тежеуден босатылуына алып келеді.

3. Кальций-өткізуші AMPA-рецепторлары экспрессиялайтын нейрондар глутаматтың әсерінен кейін кальций гомеостазын тиімді түрде қалпына келтіре алмайтындығына байланысты эксайтотроптылық әсерге жоғары сезімталдық танытады. Бұл оларды гиперқозумен байланысты патологиялық үдерістерге осал етеді.

4. Кальций-өткізуші AMPA-рецепторлары арқылы Ca^{2+} иондарының күшейтілген ағыны кальций гомеостазының айтарлықтай бұзылуына және жасушаішілік негізгі иондардың концентрациясының теңгерімінің бұзылуына алып келеді. Бұл өз кезегінде нейрондардың гиперқозу кезінде зақымдалуға бейімділігін арттырады.

Жұмыстың мемлекеттік бағдарламалармен байланысы. Диссертациялық жұмыс Қазақстан Республикасының Ғылым және жоғары білім министрлігіне қарасты әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінде Ph.D. докторларын даярлау бағдарламасы аясында және Ресей ғылым академиясының Жасуша биофизикасы институтымен (Пушино қ., Ресей) бірлесе отырып келесі іргелі зерттеулерге арналған ғылыми жобалар шеңберінде орындалды: AP05133528 «Гиперқозу кезінде мидың нейрондарының спонтанды синхронды белсенділігінің ритмогенезі мен реттелуі» (мемлекеттік тіркеу № 0115PK00284); AP19678607 «Гиперқозу кезінде нейрондардың ырғақтарын басқарудағы кальций-тәуелді механизмдері» (мемлекеттік тіркеу № 0123PK00430).

Автордың жеке үлесі. Автордың жұмысқа қосқан жеке үлесі – тәжірибелерді тікелей жүргізу, алынған нәтижелерді өңдеу, талдау, интерпретациялау және ғылыми қорытындыларды жинақтаудан тұрады.

Жұмыстың апробациясы. Диссертациялық жұмыстың материалдары келесі ғылыми конференциялар мен симпозиумдарда баяндалып, талқыланды:

«Фараби әлемі» атты студенттер мен жас ғалымдардың халықаралық ғылыми конференциясы, Қазақстан, Алматы, 2020-2025 ж.ж.

«Клиникалық нейрофизиология және нейрореабилитация» атты VIII Бүкілресейлік халықаралық қатысумен өткен ғылыми-практикалық конференция, Ресей, Санкт-Петербург, 2020 ж.

«Биология және биотехнологияның қазіргі мәселелері» атты халықаралық ғылыми-практикалық конференция, Қазақстан, Алматы, 2021 ж.

"Жаһандық ғылым және инновация 2021: Орталық Азия" атты халықаралық ғылыми-практикалық конференция, Қазақстан, Нұр-Сұлтан, 2021 ж.

«Биология – XXI ғасырдың ғылымы» атты XXV Пушкино жас ғалымдар мектебі-конференциясы, Ресей, Пушкино, 2022 ж.

«Медицина мен психология үшін нейроғылым» атты халықаралық пәнаралық конгресс, Ресей, Қырым, 2022, 2024 ж.

«Ғылымдардың интеграциясы: биофизика, биомедицина, нейроғылым» атты халықаралық ғылыми-практикалық конференция, Қазақстан, Алматы, 2022-2024 ж.

«Биомедицина мен экологиядағы заманауи жетістіктер» атты халықаралық ғылыми-практикалық конференция, Қазақстан, Алматы, 2023 ж.

Жас ғалымдарға арналған «Медицинадағы биофизиканың өзекті мәселелері» атты халықаралық ғылыми-практикалық конференция, Өзбекстан, Ташкент, 2023 ж.

«Биология және медицинадағы нанотехнологиялар» атты Халықаралық симпозиум, Қазақстан, Алматы, 2024 ж.

Қазақстан және Орта Азия физиологтарының IX съезі, Қазақстан, Астана, 2024 ж.

Жарияланымдар. Диссертациялық жұмыстың негізгі мазмұны 48 ғылыми басылымда көрініс тапқан, соның ішінде: – Scopus және Web of Science деректер базасында индекстелетін халықаралық журналдарда 6 мақала; – Қазақстан Республикасы Ғылым және жоғары білім министрлігінің Ғылым және жоғары білім саласындағы сапаны қамтамасыз ету комитеті ұсынған республикалық ғылыми журналдарда 4 мақала; – авторлық құқық нысанына мемлекеттік тіркеу туралы 3 куәлік; – халықаралық конференциялар мен симпозиумдар жинақтарында 35 баяндама жарық көрді.

Диссертацияның құрылымы. Диссертациялық жұмыс 125 беттен тұрады және келесі бөлімдерден құралған: белгілер мен қысқартулар тізімі, кіріспе, әдеби шолу, зерттеу материалдары мен әдістері, нәтижелерді талқылау, қорытынды. Жұмыста 423 атаудан тұратын пайдаланылған әдебиеттер тізімі, 1 кесте мен 39 сурет келтірілген.