

АННОТАЦИЯ

диссертации на соискание ученой степени доктора философии (Ph.D.) по образовательной программе 8D05101 – «Биология»

Қайрат Бақытжан Қайратұлы

“Роль кальций-проводящих каинатных и AMPA рецепторов тормозных нейронов в контроле возбуждения нейрональной сети гиппокампа”

Общая характеристика работы. Работа посвящена изучению роли кальций-проницаемых каинатных и AMPA рецепторов тормозных нейронов в контроле возбуждения нейрональной сети гиппокампа.

Оценка современного состояния решаемой проблемы. Гипервозбуждение нейронов в сети возникает при эпилепсии, начальной стадии инсульта и других нейродегенеративных нарушениях. Длительное гипервозбуждение приводит к гибели нейронов. Гипервозбуждение нейронной сети в условиях *in vitro* может быть вызвано различными физиологическими методами: общей деполяризацией нейронов при применении различных концентраций KCl; удалением ионов Mg^{2+} из среды для снятия блока с NMDA-рецепторов; соединениями, повышающими внутриклеточную концентрацию цАМФ, высокими концентрациями аммиака, удалением ГАМК(А)-зависимого ингибирования рецепторов. Такие воздействия приводят к возникновению высокочастотной синхронной импульсной активности нейронов, которая на первом этапе индуцирует процессы адаптации и preconditionирования глутаматных рецепторов и потенциал-зависимых Ca^{2+} -каналов, а при длительной активности приводит к гибели нейронов. Для подавления перевозбуждения более эффективно использовать эндогенные адаптационные механизмы, которые могут быть предварительно активированы различными экзогенными соединениями. Один из механизмов подавления гипервозбуждения связан с использованием селективных активаторов особой субпопуляции тормозных нейронов, содержащих кальций-проницаемые каинатные и AMPA-рецепторы, которые быстро реагируют на гипервозбуждение секрецией ГАМК.

Актуальность темы исследования. Гиппокамп – центральный отдел лимбической системы, играющий важную роль в процессах консолидации памяти (процесс перехода кратковременной памяти в долговременную), формировании пространственной памяти, а также в формировании эмоций. Двумя основными типами нейронов в гиппокампе являются возбуждающие пирамидальные клетки и тормозные интернейроны. Как правило, интернейроны гиппокампа являются ГАМКергическими и секретируют основной тормозной нейротрансмиттер мозга – ГАМК. На данный момент насчитывается более 20 подтипов интернейронов гиппокампа, которые различаются морфологически, физиологически, имеют различный профиль экспрессии генов. Они регулируют активность пирамидальных клеток и играют важную роль на всех стадиях обработки информации.

Нарушение работы ГАМКергической системы связано с развитием различных заболеваний мозга – от нейродегенеративных до психических.

Селективная гибель отдельных популяций ГАМКергических нейронов отмечается при эпилепсии, ишемии, печёночной энцефалопатии и травматическом повреждении мозга. При этом во многих случаях различные субпопуляции ГАМКергических нейронов являются более уязвимыми по сравнению с пирамидальными нейронами. Несмотря на длительные исследования, механизмы, определяющие гибель определённых субпопуляций ГАМКергических нейронов при различных патологиях, остаются невыясненными.

Основной причиной гибели клеток при перечисленных заболеваниях считается эксайтотоксичность, обусловленная увеличением концентрации внеклеточного глутамата. В настоящий момент основой терапии этих заболеваний является использование антагонистов возбуждающих рецепторов и потенциал-зависимых каналов. Однако поскольку данные каналы экспрессируются многими клетками, применение таких препаратов связано с большим количеством побочных эффектов. В связи с этим продолжается разработка новых подходов к терапии перечисленных заболеваний, основанных на более направленном действии.

Для селективного воздействия необходимо идентифицировать и охарактеризовать отдельные субпопуляции нейронов, наиболее уязвимых при развитии вышеуказанных патологических процессов, и выяснить механизмы их гибели.

Степень разработанности проблемы. Предполагается, что основной причиной ослабления ГАМКергической регуляции в нейрональной сети при гипервозбуждении может быть повреждение ГАМКергических нейронов, содержащих кальций-проводящие AMPA- (CP-AMPA) и каинатные (CP-KAR) рецепторы. Наличие CP-AMPA и CP-KAR на мембране ГАМКергических нейронов обуславливает дополнительный приток кальция при гипервозбуждении, что усиливает эксайтотоксический стресс и может приводить к селективной гибели этих нейронов. Это предположение основано на том, что CP-AMPA экспрессируются лишь определёнными подтипами нейронов, в том числе и ГАМКергическими. В свою очередь, CP-KAR, по всей видимости, экспрессируются исключительно ГАМКергическими нейронами. В связи с этим предполагается, что ГАМКергические нейроны, экспрессирующие данные кальций-проводящие рецепторы, относятся к нейронам, наиболее уязвимым при различного рода патологиях, сопровождающихся гипервозбуждением сети.

Объект исследования. Клеточные со-культуры нейронов гиппокампа и астроцитов, выделенные из мозга новорожденных крыс.

Предмет исследования. Кальций-проводящие каинатные и AMPA рецепторы тормозных нейронов гиппокампа и их роль в контроле возбуждения нейрональной сети.

Цель и задачи работы. Целью настоящей диссертационной работы является исследование роли кальций-проницаемых каинатных и AMPA рецепторов тормозных нейронов в контроле возбуждения нейрональной сети гиппокампа.

Поставленная цель включала решение следующих основных **задач**:

- 1) Идентифицировать нейроны, экспрессирующие CP-AMPA- и CP-KARs.
- 2) Определить механизмы формирования кальциевого ответа в CP-AMPA- и CP-КА-нейронах при аппликации агонистов;
- 3) Исследование роли кальций-проницаемых AMPA-рецепторов тормозных нейронов в регуляции эпилептиформной активности;
- 4) Оценить устойчивость нейронов в условиях острой глутаматной эксайтотоксичности;
- 5) Выявить ионные механизмы, связанные с нарушением кальциевого гомеостаза. Изучить динамики изменения внутриклеточной концентрации Ca^{2+} , K^{+} , Na^{+} , pH в условиях длительного воздействия селективных агонистов.

Научная новизна исследования. Впервые проведено комплексное исследование вклада кальций-проводящих каинатных и AMPA рецепторов в регуляцию активности тормозных нейронов и поддержание баланса возбуждения и торможения в нейрональной сети гиппокампа. Установлены специфические механизмы, через которые кальциевые потоки в каинатных и AMPA рецепторах модулируют возбуждение тормозных нейронов, включая их влияние на внутриклеточные сигнальные пути и пластичность. Показан вклад дисфункции кальций-проводящих каинатных и AMPA рецепторов в нарушении баланса возбуждения и торможения, что может приводить к гипервозбуждению нейрональной сети, характерной для эпилепсии и других нейропатологий.

Теоретическая значимость исследования. Результаты, полученные в настоящей работе, расширяют наши знания касательно роли ГАМКергических нейронов, экспрессирующих кальций проводящие каинатные и AMPA рецепторы в контроле возбуждения нейрональной сети. Выявленные механизмы, связывающие гипервозбуждение с дисфункцией кальций-проводящих каинатных и AMPA рецепторов, обеспечивают теоретическую основу для понимания патогенеза эпилепсии и других нейродегенеративных заболеваний. Полученные данные создают предпосылки для дальнейших исследований по взаимодействию рецепторов в различных типах нейронов, а также их роли в других отделах мозга, помимо гиппокампа.

Практическая ценность работы состоит в том, что полученные данные могут быть применены при разработке новых стратегий фармакотерапии различных нейродегенеративных нарушений связанных с гипервозбуждением нейронов в сети. Обнаруженный нейропротекторный эффект селективной активации данной популяции нейронов может послужить основой для разработки новых эффективных подходов для терапии различных заболеваний сопровождающихся гипервозбуждением нейрональных сетей, таких как эпилепсия, ишемия и др. Результаты диссертационной работы могут быть использованы при чтении специальных курсов по направлению подготовки ГОП «080 – Биология и смежные науки» – «Биология», «Биофизика», «Биомедицина» и «Нейронаука».

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Кальций-проницаемые AMPA-рецепторы (CP-AMPA-Rs) тормозных нейронов регулируют структуру кластеров пароксизмального деполяризующего сдвига (PDS) при эпилептиформной активности нейронных сетей. Регуляция осуществляется через взаимодействие с калиевыми каналами Kv7, что обеспечивает контроль гиперполяризационных фаз и продолжительности кластеров.

2. Нейроны, экспрессирующие CP-AMPA-Rs, играют ключевую роль в передаче возбуждения в нейронных сетях при эпилептиформной активности. Активация этих рецепторов приводит к растормаживанию глутаматергических нейронов через ингибирование активности других ГАМКергических нейронов через ГАМК(B)-рецептор-зависимую активацию калиевых каналов типа Kv7.

3. Нейроны, содержащие CP-AMPA-Rs, обладают высокой чувствительностью к эксайтотоксическим повреждениям вследствие их неспособности эффективно восстанавливать кальциевый гомеостаз после воздействия глутамата. Это обуславливает их уязвимость к патологическим процессам, связанным с гипервозбуждением.

4. Повышенный приток ионов Ca^{2+} через CP-AMPA-Rs приводит к значительным нарушениям кальциевого гомеостаза и дисрегуляции внутриклеточной концентрации ключевых ионов, что увеличивает их восприимчивость к повреждениям при гипервозбуждении.

Связь работы с планом государственных программ. Диссертационная работа проводилась в соответствии с программой подготовки докторов PhD Казахского национального университета имени аль-Фараби Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан совместно с Институтом биофизики клетки Российской академии наук (г. Пущино, Россия) в рамках выполнения следующих тем: AP05133528 «Ритмогенез и регуляция спонтанной синхронной активности нейронов мозга при гипервозбуждении» (№ гос. регистрации 0115PK00284); AP19678607 «Кальций-зависимые механизмы управления ритмами нейронов мозга при гипервозбуждении» (№ госрегистрации 0123PK00430) государственной программы фундаментальных исследований.

Личный вклад автора. Личный вклад автора в работу заключается в непосредственном проведении эксперимента, обработке, анализе, интерпретации и обобщении полученных научных результатов.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены и обсуждены на: Международной научной конференции студентов и молодых ученых «Фараби әлемі». Казахстан, Алматы 2020-2025 гг.

VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Россия, Санкт-Петербург 2020 г.

Международной научно-практической конференции «Современные проблемы биологии и биотехнологии», Казахстан, Алматы 2021 г.

Международной научно-практической конференции "Глобальная наука и инновации 2021: Центральная Азия", Казахстан, Нур-Султан, 2021 г.

25-ой Пущинской школе-конференции молодых ученых с международным участием «Биология – наука XXI века». Россия, Пущино 2022 г.

Международном Междисциплинарном Конгрессе «Нейронаука для медицины и психологии». Россия, Крым 2022 г., 2024 г.

Международной научно-практической конференции «Интеграция наук: биофизика, биомедицина, нейронаука». Казахстан, Алматы 2022-2024 г.

Международной научно-практической конференции «Современные достижения в биомедицине и экологии». Казахстан, Алматы 2023 г.

Международной научно-практической конференции молодых учёных “Вопросы биофизики в медицине”. Узбекистан, Ташкент 2023 г.

Международном симпозиуме «Нанотехнологии в биологии и медицине», Казахстан, Алматы, 2024 г.

IX Съезде Физиологов Казахстана и Средней Азии, Казахстан, Алматы 2024 г.

Публикации. Основное содержание диссертации отражено в 48 печатных работах, в том числе 5 статей в международных изданиях, индексируемых в базе данных Scopus и Web of Science, 6 статей в Республиканских научных журналах, рекомендуемый Комитетом по контролю в сфере науки и высшего образования Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан, 3 свидетельств о государственной регистрации прав на объект авторского права, 35 публикаций в материалах и сборниках международных конференций и симпозиумов.

Структура диссертации. Диссертация изложена на 125 страницах и состоит из обозначений и сокращений, введения, литературного обзора, материалов и методов исследования, обсуждения полученных результатов, заключения и списка использованных источников из 423 наименований, содержит 1 таблиц и 39 рисунков.