

УДК 57.085.23+612.826.5+612.819.2

Думанська Г. В., канд. біол. наук, старший науковий співробітник
Веселовський М. С., д-р біол. наук, професор, академік НАН України, завідувач відділу

Відділ фізіології нейронних мереж, Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця Національної академії наук України, м. Київ, Україна

Короткочасна гіпоксія в моделі зорового нерва *in vitro*

Гіпоксія є однією з основних причин дегенеративних уражень зорового нерва (ЗН), які призводять до поступових і часто необоротних порушень передачі сигналу від сітківки до структур головного мозку. Частина волокон ЗН представлена проєкціями гангліозних клітин сітківки у верхні пласти підкіркового зорового центра (superficial superior colliculus, SSC) і відображає перший рівень передачі та обробки аферентних сигналів. Ураження цього рівня зорового аналізатора призводять не лише до порушень орієнтації, навігації та зорової уваги, а й до неврологічних і психіатричних розладів. Ключові моменти гіпоксичного пошкодження саме проєкцій сітківки в SSC досліджені досить детально на рівні структурних порушень і судинних реакцій за допомогою методів магнітно-резонансної томографії. Разом з тим ефекти та механізми гіпоксичного ураження нейропередачі цієї ланки зорової системи раніше досліджені не були.

У роботі, використовуючи сучасні електрофізіологічні, електрохімічні та фармакологічні методи, ми дослідили нейропередачу в проєкціях сітківки в SSC при імітації короткочасних гіпоксичних станів. Уперше нами була розроблена унікальна *in vitro* модель ЗН – кокультура дисоційованих клітин сітківки та нейронів SSC. У кокультурі просторові, морфологічні та електрофізіологічні відмінності обох популяцій клітин надають можливість дослідження нейропередачі в окремих, добре візуалізованих та ідентифікованих парах: гангліозна клітина сітківки (ГКС) – нейрон SSC, тобто в кожній окремій проєкції ЗН *in vitro*. При парній реєстрації аферентного сигналу в цих проєкціях ми імітували короткочасні гіпоксичні стани методом швидкої локальної суперфузії.

Нами було встановлено, що короткотривала гіпоксія (до 5 хв) призводить до довготривалих патологічних змін передачі сигналу від сітківки до структур головного мозку. Також методами базового та повного квантового аналізу ми оцінили, які клітинні механізми опосередковують цю пластичність.

У роботі представлено нову й унікальну *in vitro* модель ЗН – ідеальний об'єкт для фармакологічних та електрофізіологічних досліджень нейропередачі візу-

ального сигналу в нормі та в разі патології. Результати наших досліджень є патогенетичним обґрунтуванням можливості підбору адекватних методів ефективної терапії та проведення регулярних курсів системної профілактики гіпоксичних станів зорового аналізатора.

Думанская А. В., канд. биол. наук, старший научный сотрудник
Веселовский Н. С., д-р биол. наук, профессор, академик НАН Украины, заведующий отделом

Отдел физиологии нейронных сетей, Институт физиологии им. А. А. Богомольца Национальной академии наук Украины, г. Киев, Украина

КРАТКОВРЕМЕННАЯ ГИПОКСИЯ В МОДЕЛИ ЗРИТЕЛЬНОГО НЕРВА IN VITRO

Гипоксия является одной из основных причин дегенеративных заболеваний зрительного нерва (ЗН), которые приводят к постепенным и часто необратимым нарушениям передачи сигнала от сетчатки к структурам головного мозга. Часть волокон ЗН представлена проекциями ганглиозных клеток сетчатки в верхние слои подкоркового зрительного центра (*superficial superior colliculus, SSC*) и отображает первый уровень передачи и обработки афферентных сигналов. Поражения данного уровня зрительного анализатора приводят не только к проблемам с ориентацией, навигацией и зрительного внимания, а также могут быть вовлечены в ряд неврологических и психиатрических расстройств. Ключевые моменты гипоксического поражения проекций сетчатки в *SSC* исследованы достаточно подробно на уровне структурных нарушений и сосудистых реакций с помощью методов магнитно-резонансной томографии. Вместе с тем эффекты и механизмы гипоксического поражения нейропередачи данного звена зрительной системы ранее исследованы не были.

В данной работе, используя современные электрофизиологические, электрохимические и фармакологические методы, мы исследовали нейропередачу в проекциях сетчатки в *SSC* при имитации кратковременных гипоксических состояний. Впервые нами была разработана уникальная *in vitro* модель ЗН – кокультура диссоциированных клеток сетчатки и нейронов *SSC*. В кокультуре пространственные, морфологические и электрофизиологические различия обеих популяций клеток дают возможность исследования нейропередачи в отдельных хорошо визуализированных и идентифицированных парах: ганглиозная клетка сетчатки (ГКС) – нейрон *SSC*, то есть в каждой отдельной проекции ЗН *in vitro*. При парной регистрации афферентного сигнала в этих проекциях мы имитировали кратковременные гипоксические состояния методом быстрой локальной суперфузии.

Нами було встановлено, що кратковременная гипоксия (до 5 мин) приводит к длительным патологическим изменениям передачи зрительного сигнала от сетчатки к структурам головного мозга. Также методами базового и полного квантового анализа мы оценили клеточные механизмы, что опосредствуют данные изменения.

В работе нами представлена новая и уникальная *in vitro* модель ЗН – идеальный объект для фармакологических и электрофизиологических исследований передачи визуального сигнала в норме и при патологии. Результаты наших исследований являются патогенетическим обоснованием возможности подбора адекватных методов эффективной терапии и проведения регулярных курсов системной профилактики гипоксических состояний зрительного анализатора.

Dumanska H. V., PhD in Biology, Senior Researcher

Veselovsky M. S., Dr Sci. Biol., Professor, Head of the Department

*Department of Neuronal Networks Physiology, Bogomoletz Institute of Physiology
National Academy of Science of Ukraine, Kyiv, Ukraine*

SHORT-TERM HYPOXIA IN THE OPTIC NERVE IN VITRO MODEL

Hypoxia is one of the main causes of the optic nerve disorders that lead to gradual and irreversible disruption of the signal transmission from the retina to the visual centres of the brain. Retinocollicular projections as part of the optic nerve fibres form the initial level of signal transmission from the retina to the subcortical visual centre (superficial superior colliculus, SSC) The lesions of this projections leads to navigation, orientation and visual attention deficits and could also be involved in a number of neurological and psychiatric disorders. Structural and functional responses to hypoxic injury in retinocollicular pathway were demonstrated using functional magnetic resonance imaging. Whereas, hypoxia-induced effects on this synaptic transmission were not previously investigated.

Using modern electrophysiological, electrochemical and pharmacological methods we investigated neurotransmissions in retinocollicular projections under short-term hypoxic states. We have developed for the first time coculture of dissociated retinal cells and SSC neurons as *in vitro* model of optic nerve. In coculture individual synaptic couples of retinal ganglion cell (RGC) – SSC neuron were easily identified due to their spatial location, morphological and electrophysiological characteristics. Each synaptic couple reflects single fibre of the optic nerve *in vitro*. During paired recordings of visual signal transmission, we used fast local superfusion to mimic short-term hypoxic states.

We observed that short-term (up to 5 min) hypoxia-induced long-term pathological changes in signal transmission from the retina to the visual centres of the brain. We

evaluated cellular mechanisms of such changes, using basic and complete quantal analysis.

In this study, we showed the new and unique in vitro model of the optic nerve - ideal object for pharmacological and electrophysiological studies of visual signal transmission under normal and pathological conditions. The results obtained reflect the electrophysiological basis of hypoxia-involved pathological lesion of the retino-collicular pathway and may serve to reveal new approaches for pharmacological and therapeutic interventions for hypoxia-mediated dysfunctions of the visual system.

Отримано 21.02.2019 р.