

# Зміни фонові активності та електрофізіологічних характеристик гангліозних клітин сітківки ока щура при цукровому діабеті

Н.Я. Мартинюк, В.Ю. Маслов, О.Е. Пурнинь, С.А. Федулова, М.С. Веселовський

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ; e-mail: nmartyniuk@biph.kiev.ua

*На ізольованій сітківці у щурів досліджено зміни електрофізіологічних характеристик та фонову активність гангліозних клітин сітківки (ГКС) через 3-4 тиж після ін'єкції стрептозотоцину (80 мг/кг). Показано, що в ГКС достовірно зменшувались такі електрофізіологічні характеристики: щільність потенціалзалежного натрієвого струму на 36 %,  $-0,84 \pm 0,14$  нА/нФ у контролі та  $-0,55 \pm 0,08$  нА/нФ при стрептозотоциніндукованому цукровому діабеті (ЦД) та калієвого струму на 35 %,  $1,36 \pm 0,16$  нА/нФ у контролі та  $0,87 \pm 0,14$  нА/нФ при ЦД, потенціал спокою на 10 %,  $-59 \pm 1$  мВ у контролі та  $-53 \pm 1$  мВ при ЦД. Також суттєво зменшувалася середня частота фонові активності на 72 %,  $2,5 \pm 0,3$  с<sup>-1</sup> у контролі та  $0,7 \pm 0,1$  с<sup>-1</sup> при ЦД. Отримані результати свідчать, що патологічні зміни електрофізіологічних властивостей ГКС у щурів проявляються на достатньо ранній стадії ЦД.*

*Ключові слова: гангліозні клітини сітківки; стрептозотоциніндукований діабет; потенціалзалежні струми; постсинаптичні струми.*

## ВСТУП

Цукровий діабет (ЦД) – важке та широко розповсюджене захворювання, при якому погіршується функціонування багатьох органів та систем [1], що є небезпечним для життя людини та створює значні соціальні проблеми. Одним з найпоширеніших ускладнень при ЦД є діабетична ретинопатія, яка характеризується дегенеративними змінами сітківки і зрештою може призводити до повної втрати зору [2].

Гангліозні клітини сітківки (ГКС) є вихідними її нейронами, що отримують та інтегрують інформацію від фоторецепторів і біполярних клітин та передають у головний мозок. Дегенеративні процеси в ГКС спостерігаються як у пацієнтів, хворих на ЦД обох типів, так і на моделях штучного діабету у тварин [2]. Зокрема, показано, що структурні зміни дендритів та аксонів у ГКС відбуваються ще до появи судинних дефектів

у мишей з діабетом 1-го типу [3]. Проте зміни електрофізіологічних властивостей ГКС при ЦД залишаються дослідженими недостатньо.

Мета нашої роботи – вивчити зміни у фонові активності та електрофізіологічних характеристиках ГКС при експериментально викликаному ЦД у щурів.

## МЕТОДИКА

Самцям білих 21-добових щурів лінії Вістар (маса 50 г) одноразово проводили внутрішньочеревну ін'єкцією (80 мг/кг) стрептозотоцину (СТЗ) в ізотонічному розчині NaCl, що призводить до розвитку діабету у щурів та моделює ЦД 1-го типу у людей [4]. Тварин після ін'єкції (n=8) та контрольних щурів (n=8) такого самого віку утримували на однаковій дієті. Через 3-4 тиж після ін'єкції концентрація глюкози в плазмі крові, яку вимірювали за допомогою глюкометра Op Call Plus (ACON Laboratories, США), була в

© Н.Я. Мартинюк, В.Ю. Маслов, О.Е. Пурнинь, С.А. Федулова, М.С. Веселовський

межах 5-9 ммоль/л у контрольних тварин та 20-34 ммоль/л у дослідних тварин, що свідчить про розвиток СТЗ-індукованого ЦД [5].

Щурів декапітували, виділяли очні яблука, робили розріз вздовж межі зубчатого краю (*ora serrata*), видаляли рогівку, кристалик та скловидне тіло. Після цього зубчатий край відрізали, сітківку відшаровували від судинної оболонки, а зоровий нерв перерізували в ділянці оптичного диска. Сітківку фіксували на дні експериментальної камери, яку встановлювали на предметний столик прямого мікроскопа (загальне збільшення у 400 разів) з диференційно-інтерференційним контрастом під водо-імерсійний об'єктив. Освітленість препарата, що була заміряна на предметному столику в умовах проведення експерименту за допомогою люкметра, становила близько 28 лк. Досліди проводили при кімнатній температурі.

Робочу камеру постійно перфузували (зі швидкістю  $\sim 2$  мл/хв.) зовнішньоклітинним розчином, який містив (ммоль/л): NaCl – 140, KCl – 3, CaCl<sub>2</sub> – 2,6, MgCl<sub>2</sub> – 2, HEPES – 10, глюкоза – 12; рН доводилась до 7,4 за допомогою NaOH. Склад внутрішньоклітинного розчину був таким (ммоль/л): глюконат калію – 100, KCl – 50, EGTA – 10, MgCl<sub>2</sub> – 5, HEPES – 20 (рН 7,4, доведений KOH). У роботі використовували реактиви виробництва фірми "Sigma" (США).

Внутрішню обмежувальну мембрану та шар нервових волокон, утворений відростками клітин Мюллера та аксонами ГКС, проривали за допомогою кінчика електрода-піпетки безпосередньо над сомою досліджуваного нейрона. Після утворення гігаомного контакту, прориву мембрани та формування конфігурації «ціла клітина» проводили електрофізіологічне відведення за умов фіксації потенціалу. Для реєстрації використовували електроди-піпетки з боросилікатного скла з діаметром кінчика 1,3-1,8 мкм (електричний опір 5-7 МОм). Мембранні струми оцифровували з частотою 10 кГц аналогово-цифровим перетворювачем

Digidata 1200A («Axon Instruments», США) під керуванням програми Clampex 9,0 («Axon Instruments», США).

ГКС у стані спокою утримували при мембранному потенціалі -70 мВ. Для визначення статистичних характеристик постсинаптичних струмів (ПСС) фонову активність ГКС реєстрували протягом 100 с, при цьому враховували лише ПСС з амплітудою, більшою ніж 10 пА. При вимірюванні потенціал-залежних струмів на клітину для усунення інактивації калієвих струмів попередньо подавали імпульс тривалістю 200 мс, що гіперполяризував мембрану до рівня -100 мВ. Для активації струмів використовували депольаризувальні імпульси тривалістю 400 мс від -70 мВ з інкрементом +10 мВ до рівня +40 мВ. При різних значеннях командного потенціалу визначали амплітуду вхідного (Na<sup>+</sup>) та вихідного (K<sup>+</sup>) струму та будували їх вольт-амперні характеристики. Оскільки абсолютне значення струму залежить від розміру клітини, то аналізувались щільності відповідних струмів, які визначали з урахуванням ємності мембрани.

Аналіз, статистичну обробку та представлення результатів проводили за допомогою програмних пакетів Excel 2007 (Microsoft Office), Clampfit 9.0 («Axon Instruments», США) та Origin 8.5 (Microcal Software Inc., США). Для перевірки статистичних гіпотез ( $P < 0,05$ ) використовували t-критерій Стьюдента (при нормально розподілених вибірках) та непараметричний критерій Манна-Уїтні (при відмінності від нормального розподілу). Перевірку гіпотези про належність вибірок до нормального розподілу проводили за тестом Шапіро-Уїлка. Відмінність вибірових функцій розподілу характеристик фонові активності визначали за допомогою критерію Колмогорова-Смірнова. Числові результати представлені як середнє  $\pm$  стандартна похибка середнього (при нормальному розподіленні) або як вибіркова медіана, перша та третя квартилі (при відмінності від нормального розподілення).

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За літературними даними патологічні зміни при розвитку ЦД у самців та самиць шурів відрізняються, наприклад, втрата маси тіла [6], зміни кардіосудинних функцій [7], виробництво антиоксидантного ферменту [8] тощо. Як правило, при СТЗ-індукованому ЦД у самців спостерігаються більш тяжкі дисфункції, тому відповідні дослідження найчастіше проводяться саме на них. У нашій роботі вибір для дослідження самців був також зумовлений тим, що їх тканини та оболонки виявилися менш тягучими та легше проривалися при підході до ГКС. Успішне відведення загалом було проведено від 48 гангліозних клітин.

*Пасивні електричні властивості ГКС.* В досліджених нами клітинах середнє значення потенціалу спокою (ПС) мембрани у контролі

становило  $-59 \pm 1$  мВ (діапазон  $-50$  –  $-70$  мВ). Середній опір мембрани був  $0,5 \pm 0,1$  ГОм ( $0,2$  –  $1,4$  ГОм), середня ємність мембрани  $-25 \pm 3$  пФ ( $13$  –  $50$  пФ) ( $n = 21$ ). Ці результати узгоджуються з даними попередніх досліджень на ГКС шурів [9, 10]. У тварин з викликаним ЦД середні електрофізіологічні показники були такими: ПС  $-53 \pm 1$  мВ ( $-40$  –  $-60$  мВ), вхідний опір мембрани  $0,6 \pm 0,1$  ГОм ( $0,1$ – $1,6$  ГОм), ємність мембрани  $22 \pm 3$  пФ ( $15$ – $49$  пФ) ( $n = 21$ ). Таким чином, при ЦД статистично достовірне, хоча і незначне (на 10%) зменшення для пасивних електричних характеристик ГКС спостерігалось лише для ПС мембрани.

*Потенціалзалежні струми в ГКС.* При деполяризації мембрани ГКС реєстрували вхідні (натрієві) та вихідні (калієві) струми, величина яких залежала від підтримуваного потенціалу (рис. 1, а). Максимальна амплі-

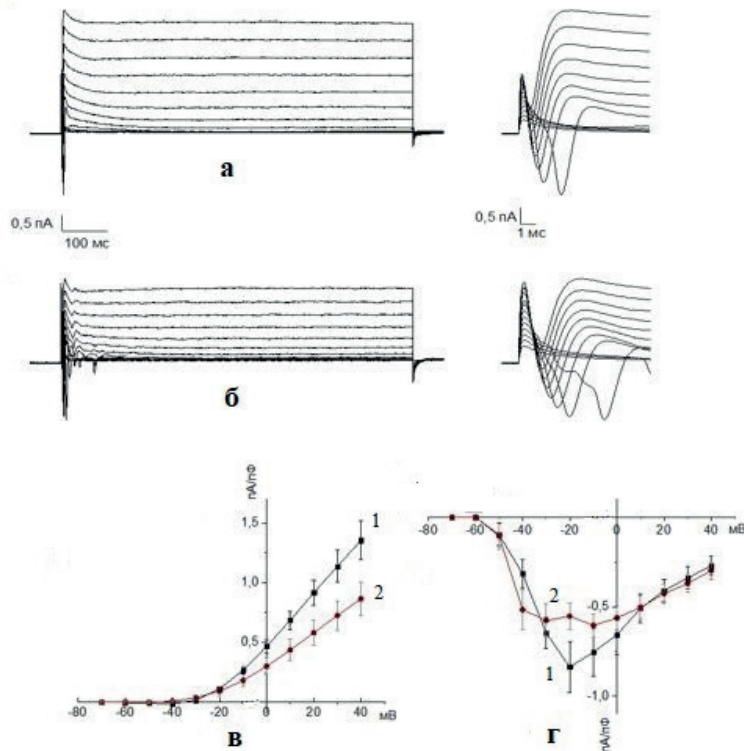


Рис. 1. Потенціалзалежні струми у гангліозних клітинах сітківки (ГКС) шурів. Представлено реєстрації струмів двох різних ГКС та їх початковий фрагмент (натрієвий струм) у контролі (а) та при стрептозоточиніндукованому діабеті (б). Струми викликані прикладанням деполяризувальних імпульсів тривалістю 400 мс від  $-70$  мВ з інкрементом  $+10$  мВ до рівня  $+40$  мВ. Усереднені вольт-амперні залежності щільності калієвих (в) та натрієвих (г) струмів, 1 – контроль, 2 – діабет

туда калієвого струму спостерігалася при потенціалі +40 мВ, натрієвого – при -20 мВ. Відповідні щільності струмів визначали після врахування струму витоку та ємності мембрани. Графіки усередненої вольт-амперної залежності для щільності струмів у контролі та при СТЗ-індукованому ЦД наведено на рис. 1, б. Щільність калієвого струму (при +40 мВ) в контролі становила  $1,36 \pm 0,16$  нА/пФ (n=18) та  $0,87 \pm 0,14$  нА/пФ (n=15) при діабеті, а натрієвого струму у контролі  $-0,84 \pm 0,14$  нА/пФ (n=18) та  $-0,55 \pm 0,08$  нА/пФ (n=15) при ЦД. Таким чином, максимальні значення щільності калієвого та натрієвого струмів ГКС достовірно зменшувалися у тварин зі СТЗ-індукованим діабетом порівняно з контролем на 36 та 35 % відповідно.

**Фонові активність ГКС.** При аналізі фонові активності ГКС було виявлено суттєве зниження частоти виникнення ПСС (рис. 2). У контрольних нейронах спостерігалися фонові збуджуючі постсинаптичні струми (ЗПСС) з середньою частотою імпульсації  $2,5 \pm 0,3$  с<sup>-1</sup> (n=21), яка достовірно не відрізнялася від частоти фонові активності ГКС у 21-обових щурів у нашому попередньому дослідженні [11]. Значення середньої частоти імпульсації у тварин зі СТЗ-викликаним діабетом становило  $0,7 \pm 0,1$  с<sup>-1</sup> (n=21). Таким чином, частота виникнення фонові активних подій у ГКС щурів зі СТЗ-індукованим ЦД знижується в 3,6 раза порівняно з контролем.

Таке зниження теоретично може виникати внаслідок зменшення як кількості активних пресинаптичних входів, так і частоти їх імпульсації. Відповідні розподілення тривалості міжімпульсних інтервалів мали експоненційний характер та достовірно відрізнялися один від одного, кумулятивні графіки ймовірності інтервалів між ПСС наведено на рис. 2, в. Експоненційний характер розподілу міжімпульсних інтервалів (відсутність виражених максимумів) свідчить про достатньо високий ступінь конвергенції активних пресинаптичних входів на ГКС у контролі та при СТЗ-індукованому ЦД.

На рис. 3 представлено результати статистичного аналізу змін основних електрофізіологічних показників ГКС при ЦД. На діаграмі наведено середні та стандартні похибки середнього, нормовані на контрольні значення.

Розподіл амплітуди ПСС як у контролі, так і при діабеті відрізнявся від нормального, відповідні (сукупні) гістограми наведено на рис. 4, а. Значення вибіркової медіани та квартилей для амплітуд ПСС у контрольних нейронів становили 19 (14, 50) пА та 19 (15, 27) пА в нейронах щурів з ЦД, відповідні середні значення  $-32 \pm 1$  пА (n = 21) та  $23 \pm 1$  пА (n = 21). Аналіз гістограм показує суттєве зниження кількості відносно високоамплітудних (понад 100 пА) фонові активних ПСС (на гістограмах ці струми для наочності представлено одним стовпчиком). Так, у

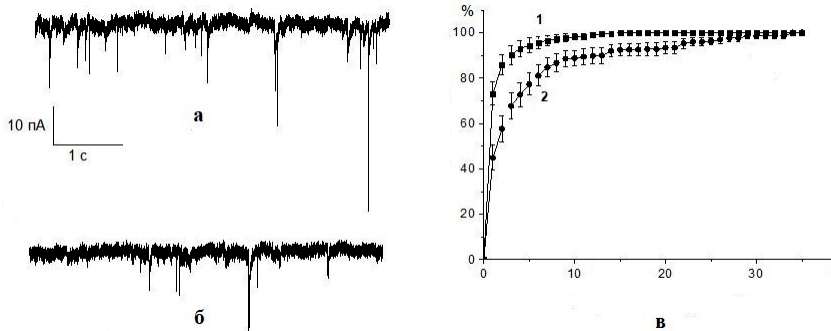


Рис. 2. Фонова активність гангліозних клітин сітківки (ГКС) щурів. Представлено фрагменти реєстрацій фонові синаптичної активності двох різних ГКС в контролі (а) та при стрептозотокциніндукованому діабеті (б), графік усередненої кумулятивної ймовірності міжімпульсних інтервалів для всіх досліджених нейронів у контролі та при діабеті (в), 1 – контроль, 2 – діабет

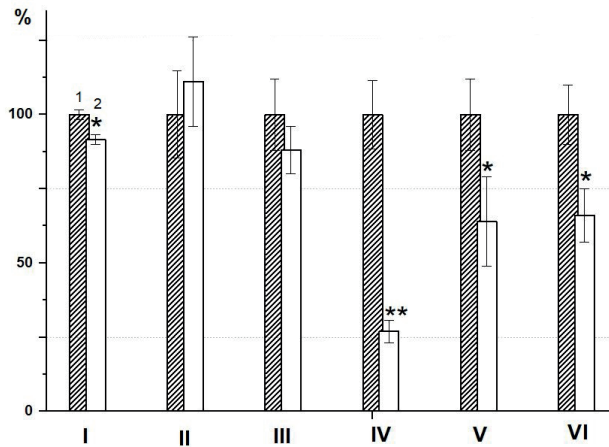


Рис. 3. Статистичний аналіз електрофізіологічних характеристик гангліозних клітин сітківки шурів. Представлено середні значення та стандартні похибки середнього, нормовані на значення в контролі. I – потенціал спокою, II – опір мембрани, III – ємність мембрани, IV – частота фонові активності, V – амплітуда натрієвого струму (при -20 мВ), VI – амплітуда калієвого струму (при +40 мВ), 1 – контроль, 2 – діабет. \* P < 0,05, \*\* P < 0,01

контролі спостерігалось 154 таких ПСС, тоді як в нейронах шурів з ЦД – лише 15. Амплітуди ПСС при викликаному діабеті у більшості клітин варіювали від 10 до 50 пА, лише в трьох нейронах амплітуди окремих фонових струмів сягали 250 пА, тоді як в контролі вони мали значення до 500 пА.

Відсутність у фоновій активності ГКС при ЦД високоамплітудних ПСС може частково пояснюватися зменшенням амплітуди натрієвого струму, адже такі струми виникають, вірогідно, в результаті недостатньої фіксації потенціалу на дендритах та активації розташованих на них натрієвих каналів. Відомо,

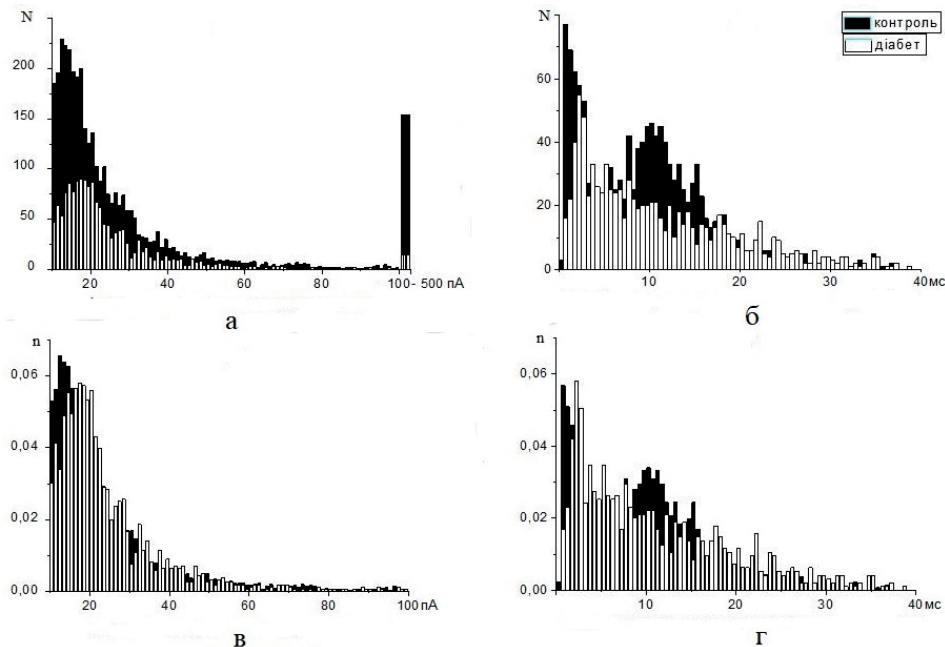


Рис. 4. Розподіл амплітуди та постійної часу спаду фонових постсинаптичних струмів гангліозних клітин сітківки шурів. Представлено сумісні гістограми амплітуди (а) та постійної часу спаду (б) та гістограми щільності розподілу амплітуди (в) та постійної часу спаду (г) струмів у контролі та при діабеті

що більшість ГКС мають достатньо велике та розгалужене дендритне дерево [12], яке зберігається при такій постановці дослідів. Проте цей факт не може пояснити суттєвого зниження частоти фонові активності, адже частка високоамплітудних ПСС становить лише близько 4 % (154 з 3642) усіх фоновоактивних струмів у контролі. Гістограми щільності розподілень (в інтервалі до 100 нА) амплітуди в контролі та при ЦД представлено на рис. 4, в. При ЦД зменшується частка ПСС з відносно невеликими (до 16 пА, перші шість стовпчиків гістограми) амплітудами, що становить близько 10 % (360 з 3642) від загальної кількості фоновоактивних струмів в контролі. Можна припустити, що на ранніх стадіях ЦД найсильнішої деградації зазнають найслабші за синаптичною ефективністю фоновоактивні входи, які за нормальних умов забезпечують наявність струмів з низькою амплітудою. Таким чином, суттєве зменшення частоти фонові активності при ЦД супроводжується незначними, хоча і достовірними, змінами у формі розподілення амплітуди ПСС. Такі зміни, вірогідно, виникають не внаслідок зменшення щільності постсинаптичних рецепторів на мембрані ГКС, а відображують патологічні зміни процесів формування активності на рівні біполярних та амакринових клітин, а також зменшення кількості активних пресинаптичних входів.

Фонова активність ГКС забезпечується за рахунок збуджувальної глутаматної передачі від біполярних нейронів [13] та гальмівної ГАМК- та гліцинової передачі від амакринових клітин [14]. Відповідно, зміни у функціональному стані цих клітин будуть відображуватись і на фонові активності ГКС. Слід також зазначити, що одним з імовірних факторів негативного впливу на пресинаптичні входи ГКС може бути ексайтотоксичне ушкодження: у літературі є дані, що при діабетичній ретинопатії зазнають змін процеси вивільнення та зворотного поглинання глутамату в сітківці як у людей, так і щурів [15-17]. Також відомо, що при

розвитку ЦД в сітківці відбуваються зміни в ГАМК та гліцинової синаптичній передачі [8]. Ці рецептори опосередковують синаптичну передачу на ГКС від амакринових клітин, властивості яких також змінюються при ЦД [18], що, вірогідно, і відображується на характеристиках фонові активності ГКС.

Відомо, що найбільш швидкі збуджувальні синапси нейронів ссавців мають два типи каналів постсинаптичних глутаматних рецепторів: AMPA- та NMDA-рецептори. Вони локалізовані в одному синапсі [19], але їх характерний час активації різний. AMPA-рецептори активуються та деактивуються за декілька мілісекунд, тоді як для NMDA пік активації становить 20-30 мс, а деактивація може сягати сотень мілісекунд [20]. Також відомо, що значення постійної часу спаду для ГАМК-струмів становить 35-50 мс [21]. При цьому відбувається т. з. дендритна фільтрація: форма окремого ПСС може істотно спотворюватися залежно від того, як далеко від соми по дендритному дереву розташовані рецептори, активація яких викликає цей струм [22, 23].

Для побудови гістограм щільності розподілення постійної часу спаду ПСС у контролі та при викликаному ЦД аналізували лише струми, які чітко ідентифікувалися та не накладалися на інші (рис. 4, б, г). Слід відзначити певну селективність змін фонові активності, викликаних ЦД: суттєво зменшується частка струмів з постійними спаду 1-2 мс та 9-13 мс. Проте цей факт потребує детальнішого дослідження з використанням специфічних блокаторів різних типів синаптичної передачі, адже існують літературні дані про селективне пригнічення ГАМК-опосередкованої синаптичної передачі в ГКС ОН-типу мишей на 3-му місяці розвитку експериментально викликаного ЦД [17].

Таким чином, вже на достатньо ранній стадії СТЗ-індукованого ЦД (3-4 тижні після ін'єкції) спостерігається суттєве (на 72%) зниження частоти фонові активності ГКС, при цьому пригнічення їх власних електрофі-

зіологічних характеристик є помітно меншим (на 10, 36 та 35 % для ПС, амплітуди калієвого струму та амплітуди натрієвого струму відповідно) або статистично недостовірним (опір та ємність мембрани). Також спостерігаються зміни форми розподілення амплітуди ПСС, головним чином за рахунок високо- (понад 100 нА) та низькоамплітудних (до 20 пА) струмів при незмінному значенні медіани. Отримані результати дають можливість припустити, що пригнічення фонові активності ГКС більшою мірою відображає патологічні зміни на етапі формування імпульсації у біполярних та амакрінових клітинах, а не безпосередньо на рівні ганліозних клітин.

*Робота виконана у рамках теми «Біофізичні та молекулярно-генетичні механізми регуляції фізіологічних та патологічних процесів», номер держреєстрації 0116U004470.*

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co authors of the article.*

**Н.Я. Мартынюк, В.Ю. Маслов, Е.Э. Пурнинь, С.А. Федулова, Н.С. Веселовский**

## **ИЗМЕНЕНИЯ ФОНОВОЙ АКТИВНОСТИ И ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ГАНГЛИОЗНЫХ КЛЕТОК СЕТЧАТКИ ГЛАЗА КРЫСЫ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ**

На изолированной сетчатке у крыс исследованы изменения электрофизиологических характеристик и фоновой активности ганглиозных клеток сетчатки (ГКС) через 3-4 нед после инъекции стрептозотоцина (80 мг/кг). Показано, что в ГКС достоверно снижались следующие электрофизиологические характеристики: плотность потенциалзависимого натриевого тока на 36 %,  $-0,84 \pm 0,14$  нА/пФ в контроле и  $-0,55 \pm 0,08$  нА/пФ при стрептозотозининдуцированном сахарном диабете (СД) и калиевого тока на 35 %,  $1,36 \pm 0,16$  нА/пФ в контроле и  $0,87 \pm 0,14$  нА/пФ при СД, потенциал покоя на 10 %,  $-59 \pm 1$  мВ в контроле и  $-53 \pm 1$  мВ при СД. Также существенно снижалась средняя частота фоновой активности на 72 %,  $2,5 \pm 0,3$  с<sup>-1</sup> в контроле

и  $0,7 \pm 0,1$  с<sup>-1</sup> при СД. Полученные результаты свидетельствуют, что патологические изменения электрофизиологических свойств ГКС у крыс проявляются на достаточно ранней стадии экспериментально вызванного СД. Ключевые слова: ганглиозные клетки сетчатки; стрептозотозининдуцированный диабет; потенциалзависимые токи; постсинаптические токи.

**N.Ya. Martyniuk, V.Yu. Maslov, H.E. Purnyn, S.A. Fedulova, N.S. Veselovsky**

## **CHANGES OF ONGOING ACTIVITY AND ELECTROPHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE RAT RETINAL GANGLION CELLS AT DIABETES MELLITUS**

Changes of electrophysiological characteristics and ongoing activity parameters of the retinal ganglion cells (RGCs) on isolated rat retina were studied 3-4 weeks after streptozotocin (STZ) injection (80 mg/kg). It was shown that following electrophysiological characteristics significantly decreased: density of sodium current on 35 %,  $-0,84 \pm 0,14$  nA/pF in control and  $-0,55 \pm 0,08$  nA/pF at the STZ-induced diabetes mellitus (DM) and potassium current on 36 %,  $1,36 \pm 0,16$  nA/pF in control and  $0,87 \pm 0,14$  nA/pF at DM, resting membrane potential on 10 %,  $-59 \pm 1$  mV in control and  $-53 \pm 1$  mV at DM. The mean frequency of ongoing postsynaptic currents reduced on 72 %,  $2,5 \pm 0,3$  s<sup>-1</sup> in control and  $0,7 \pm 0,1$  s<sup>-1</sup> at DM. The data suggest that pathological changes of the electrophysiological characteristics in RGCs appear at early stage of experimentally-induced DM.

Keywords: retinal ganglion cells; STZ-induced diabetes; voltage-dependent currents; postsynaptic currents.

*Bogomoletz Institute of Physiology NAS of Ukraine, Kyiv; e-mail: nmartyniuk@biph.kiev.ua*

## **REFERENCES**

1. World Health Organization. Global status report on non-communicable diseases. Geneva. 2014.
2. Kern TS, Barber AJ. Retinal ganglion cells in diabetes. J Physiol. 2008;586(18):4401-8.
3. Gastinger MJ, Kunselman AR, Conboy EE, Bronson SK, Barber AJ. Dendrite remodeling and other abnormalities in the retinal ganglion cells of Ins2 Akita diabetic mice. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2008;49(6):2642-53.
4. Rerup CC. Drugs producing diabetes through damage of the insulin secreting cells. Pharmacol Rev. 1970;22(4):485-518.
5. Gajdosík A, Gajdosíková A, Stefek M, Navarová J, Hozová R. Streptozotocin-induced experimental diabetes in male Wistar rats. Gen Physiol Biophys. 1999 Oct;18:54-62.
6. Cortright RN, Collins HL, Chandler MP, Lemon PW, DiCarlo SE. Diabetes reduces growth and body composition more in male than in female rats. Physiol Behav. 1996;60(5):1233-38.
7. Brown RA, Walsh MF, Ren J. Influence of gender and

- diabetes on vascular and myocardial contractile function. *Endocr Res.* 2001 Nov;27(4):399-408.
8. Ramsey DJ, Ripps H, Qian H. An electrophysiological study of retinal function in the diabetic female rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47(11):5116-24.
  9. Guenther E, Schmid S, Reiff D. Maturation of intrinsic membrane properties in rat retinalganglion cell. *Vision Res.* 1999;39(15):2477-84.
  10. Kuznetsov KI, Maslov VYu, Fedulova SA, Veselovsky NS. Calcium signals induced by tonic firing in the rat retinal ganglion cells. *Fiziol Zh.* 2011; 57(1): 3-8.
  11. Martynyuk NYa, Purnyn' EE, Fedulova SA. Effect of a blocker of nicotine acetylcholine receptors on excitatory postsynaptic currents in ganglion cells of the rat retina. *Neurophysiol.* 2014;46(6):516-20.
  12. O'Brien BJ, Isayama T, Richardson R, Berson DM. Intrinsic physiological properties of cat retinal ganglion cells. *J Physiol.* 2002;538(3):787-802.
  13. Kerschensteiner D. Glutamatergic Retinal Waves. *Front Neural Circuits.* 2016; 10(38).
  14. Farajian R, Pan F, Akopian A, Völgyi B, Bloomfield SA. Masked excitatory crosstalk between the ON and OFF visual pathways in the mammalian retina. *J Physiol.* 2011;589(18):4473-89.
  15. Ambati J, Chalam KV, Chawla DK, D'Angio CT, Guillet EG, Rose SJ, et al. Elevated gamma-aminobutyric acid, glutamate, and vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol.* 1997;115(9):1161-66.
  16. Kowluru RA, Engerman RL, Case GL, Kern TS. Retinal glutamate in diabetes and effect of antioxidants. *Neurochem Int.* 2001;38(5):385-90.
  17. Lieth E, Barber AJ, Xu B, Dice C, Ratz MJ, Tanase D, et al. Glial reactivity and impaired glutamate metabolism in short-term experimental diabetic retinopathy. *Diabetes.* 1998;47(5):815-20.
  18. Yu J, Wang L, Weng S, Yang X, Zhang D, Zhong YM. Hyperactivity of ON-type retinal ganglion cells in streptozotocin-induced diabetic mice. *PLoS One.* 2013;8(9):e76049.
  19. Ozawa S, Kamiya H, Tsuzuki K. Glutamate receptors in the mammalian central nervous system. *Prog Neurobiol.* 1998;54(5):581-618.
  20. Stern P, Edwards FA, Sakmann B. Fast and slow components of unitary EPSCs on stellate cells elicited by focal stimulation in slices of rat visual cortex. *J Physiol.* 1992;449:247-78.
  21. Protti DA, Gerschenfeld HM, Llano I. GABAergic and glycinergic IPSCs in ganglion cells of rat retinal slices. *J Neurosci.* 1997;17(16):6075-85.
  22. Brombas A, Kalita-de Croft S, Cooper-Williams EJ, Williams SR. Dendro-dendritic cholinergic excitation controls dendritic spike initiation in retinal ganglion cells. *Nature Commun.* 2017; 8:15683.
  23. Kleppe IC, Robinson HP. Determining the activation time course of synaptic AMPA receptors from openings of colocalized NMDA receptors. *Biophys J.* 1999;77(3): 1418-27.

*Матеріал надійшов  
до редакції 20.01.2017*