

# Облікова картка дисертації

## I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0823U100139

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 06-03-2023

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:



## II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Стецька Вікторія Олександрівна

2. Stetska Viktoriia O.

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: доктор філософії

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 091

Назва наукової спеціальності: Біологія. Біологія

Галузь / галузі знань:

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 21-02-2023

Спеціальність за освітою: 091 Біологія

Місце роботи здобувача: Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Код за ЄДРПОУ: 02070944

Місцезнаходження: вул. Володимирська, буд. 60, м. Київ, 01033, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

### **III. Відомості про організацію, де відбувся захист**

**Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради):** ДФ 26.001.378

**Повне найменування юридичної особи:** Київський національний університет імені Тараса Шевченка

**Код за ЄДРПОУ:** 02070944

**Місцезнаходження:** вул. Володимирська, буд. 60, м. Київ, 01033, Україна

**Форма власності:**

**Сфера управління:** Міністерство освіти і науки України

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

### **IV. Відомості про підприємство, установу, організацію, в якій було виконано дисертацію**

**Повне найменування юридичної особи:** Київський національний університет імені Тараса Шевченка

**Код за ЄДРПОУ:** 02070944

**Місцезнаходження:** вул. Володимирська, буд. 60, м. Київ, 01033, Україна

**Форма власності:**

**Сфера управління:** Міністерство освіти і науки України

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

### **V. Відомості про дисертацію**

**Мова дисертації:**

**Коди тематичних рубрик:** 76.03.29, 76.03.53

**Тема дисертації:**

1. Роль TRPV4 та TRPM8 іонних каналів в порушеннях секретомоторної функції кишечника за експериментального паркінсонізму
2. The role of TRPV4 and TRPM8 ion channels in disorders of the secretomotor function of the intestine in experimental parkinsonism

**Реферат:**

1. Хвороба Паркінсона (ХП) — це нейродегенеративне захворювання, що характеризується втратою дофамінергічних (DA) нейронів в substantia nigra pars compacta. Немоторні симптоми проявляються ще за 20 років до початку класичних моторних симптомів ХП. TRP родина іонних каналів може бути пов'язана із розвитком нейродегенеративних хвороб (у тому числі і ХП). TRPV4 канали беруть участь у порушенні бар'єрної функції ШКТ, пригніченні скоротливої активності товстої кишки та затримці дефекації. Дисфункція TRPM8 пов'язана з розвитком запальних процесів в організмі, пригніченні скоротливої активності кишечника. Тому метою дисертаційного дослідження було встановлення релевантної моделі ХП для вивчення механізмів порушення моторно-евакуаторної і бар'єрної функції кишечника та ролі TRPV4 й TRPM8

іонних каналів у них. Для виконання роботи використовували наступні методи дослідження: стереотаксичні операції для моделювання ХП, поведінкові тести, вестерн-блот, імуногістохімія, фізіологічні методи, метод бактеріологічних посівів, біохімічні методи, методи варіаційної статистики. Нами вперше показано, що за LPS- і 6-OHDA-модельованої ХП у щурів та ротенонової моделі ХП у мишей, спостерігаються функціональні розлади секретomotorної функції ШКТ, проте напрям розладів саме за 6-OHDA-моделі у щурів та ротенонової моделі ХП у мишей відповідає клінічному перебігу ХП. Через 7 місяців після моделювання 6-OHDA-ХП показники поведінкових та локомоторних реакцій ставали менш виразними в порівнянні з 1-м. Через 7 місяців у щурів з ХП збільшувалася маса тіла, кількість спожитої їжі, кількість лактозопозитивної *E.coli* та зникала лактозонегативна *E.coli*, зменшувалася швидкість кишкового транзиту в порівнянні з контролем. Через 7 місяців після моделювання 6-OHDA-ХП також спостерігалися якісні зміни глікопротеїнів слизу. Нами було показано 2-кратне зменшення рівня TN, зникнення TRPM8 і 2-кратне збільшення TRPV4 іонних каналів у товстій кишці щурів. TN-, TRPV4- та TRPM8-позитивне забарвлення локалізувалося апікально на епітеліоцитах товстої кишки щурів. Активація TRPV4 агоністом GSK1016790A (0,3 мкМ) призводила до зниження максимального піку скорочення та площі скорочення ізольованої ділянки товстої кишки, а також пригнічення KCl-стимульованої скоротливої активності гладеньком'язових препаратів товстої кишки щурів з 6-OHDA-ХП. Активація TRPM8 каналів ментолом (100 мкМ) на фоні дії карбахоліну не призводила до змін в максимальному піці скорочення та площі під кривою. Аналогічний ефект спостерігався у щурів з 6-OHDA-ХП. Відбувалася тенденція до зниження амплітуди скорочень смужок гладеньких м'язів товстої кишки щурів з 6-OHDA моделлю за активації TRPM8 каналів ментолом. У щурів з 6-OHDA-ХП спостерігався нижчий рівень секреції іонів у відповідь на стимулювальний ефект карбахоліну, а також тенденція до підвищення трансептеліальної проникності. У щурів з 6-OHDA-ХП агоніст TRPV4 каналів не впливав на базальний електрогенний транспорт іонів, проте пригнічував стимулювальний ефект карбахоліну. Введення агоністу TRPM8 іонних каналів ментолу не викликало змін у показниках базального струму короткого замикання в обох досліджуваних групах. У щурів з 6-OHDA-ХП такого ефекту ми не спостерігали. Введення C60 фулеренів (C60FAS): попереджало 6-OHDA-зумовлене руйнування DA нейронів у середньому мозку, що відображалось у більшій інтенсивності забарвлення TN у середньому мозку щурів у порівнянні з групою 6-OHDA+SPS; знижувало рівень тривожності у щурів з ХП; 3) покращувало харчову поведінку; відновлювалась швидкість транзиту та рівень стимульованої карбахоліном моторної активності товстої кишки щурів з ХП. Проте, введення C60FAS мало побічні наслідки: накопичення C60FAS частинок у підшлунковій залозі; підвищення фагоцитарної активності перитонеальних макрофагів; легкий зсув у антиоксидантно-прооксидантній системі мозку із більш глибоким негативним впливом на систему глутатіону. Це може свідчити про токсичну побічну дію C60FAS і повинно бути враховано при проведенні подальших досліджень щодо застосування C60FAS для лікування ХП. Таким чином, у роботі було показано, що 6-OHDA, LPS та ротенонова моделі ХП супроводжуються розладами з боку ШКТ. 6-OHDA модель ХП у щурів є релевантною до клінічного перебігу ХП, а розлади з боку ШКТ відтворюються навіть у віддаленні терміни після моделювання; TRPV4 та TRPM8 іонні канали залучені в патогенезі секретomotorної функції кишечника за 6-OHDA моделі ХП у щурів, а опосередковані ними регуляторні шляхи порушені; водний розчин C60FAS є перспективним для комплексного відновлення центральних симптомів ХП та моторної функції ШКТ за ХП, проте проявляє токсичний побічний ефект на щурячій моделі 6-OHDA-ХП *in vivo*.

2. Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disease characterized by the loss of dopaminergic (DA) neurons in the substantia nigra pars compacta. Non-motor symptoms appear 20 years before the onset of classic motor symptoms of PD. The TRP family of ion channels may be associated with the development of neurodegenerative diseases (including PD). TRPV4 channels are involved in the disruption of the barrier function of the gastrointestinal (GI) tract, suppression of the contractile activity of the colon, and delay in defecation. TRPM8 dysfunction is associated with the development of inflammatory processes in the body, suppression of the contractile activity of the intestines. Therefore, the aim of the dissertation research was to establish a relevant model of PD for studying the mechanisms of impaired motor-evacuatory and barrier function of the intestine and the role of TRPV4 and TRPM8 ion channels in them. The following research methods were used to perform the

work: stereotaxic operations for PD modeling, behavioral tests, western blot, immunohistochemistry, physiological methods, the method of bacteriological cultures, biochemical methods, methods of variational statistics. We have shown for the first time that LPS- and 6-OHDA-PD in rats and the rotenone model of PD in mice show functional disorders of the secretory-motor function of the GI tract, but the direction of disorders is specific to the 6-OHDA model in rats and the rotenone model of PD in mice corresponds to the clinical course of PD. 7 months after modeling 6-OHDA-PD, indicators of behavioral and locomotor reactions became less pronounced in comparison with the 1st. After 7 months, the body weight, the amount of food consumed, the amount of lactose-positive E.coli and the disappearance of lactose-negative E.coli, and the speed of intestinal transit decreased compared to the control. Qualitative changes in mucus glycoproteins were also observed 7 months after modeling 6-OHDA-PD. We showed a 2-fold decrease in the level of TH, the disappearance of TRPM8 and a 2-fold increase in TRPV4 ion channels in the colon of rats. TH-, TRPV4- and TRPM8-positive staining was localized apically on the epitheliocytes of the colon of rats. Activation of TRPV4 with the agonist GSK1016790A (0.3  $\mu$ M) led to a decrease in the maximal peak contraction and contraction area of the isolated colon section, as well as inhibition of KCl-stimulated contractile activity of colonic smooth muscle preparations of rats with 6-OHDA-PD. Activation of TRPM8 channels by menthol (100  $\mu$ M) against the background of carbachol action did not lead to changes in the maximal peak of the contraction, as well as the area under the curve. A similar effect was observed in rats with 6-OHDA-PD. There was a tendency to decrease the amplitude of the contractions of the smooth muscle strips of the colon of rats with the 6-OHDA model upon activation of TRPM8 channels by menthol. Rats with 6-OHDA-PD showed a lower level of ion secretion in response to the stimulatory effect of carbachol, as well as a tendency to increase transepithelial permeability. In rats with 6-OHDA-PD, the TRPV4 channel agonist did not affect the basal electrogenic transport of ions, but inhibited the stimulating effect of carbachol. The administration of menthol did not cause changes in the parameters of the basal short-circuit current in both studied groups. We did not observe such an effect in rats with 6-OHDA-PD. Administration of C60 fullerene (C60FAS): prevented 6-OHDA-induced destruction of DA neurons in the midbrain, which was reflected in a greater intensity of TH staining in the midbrain of rats compared to the 6-OHDA+SPS group; reduced the level of anxiety in rats with PD; improved food behavior; the rate of transit and the level of carbacholin-stimulated motor activity of the colon of rats with PD were restored. Administration of C60FAS had side effects: accumulation of C60FAS particles in the pancreas; increase in phagocytic activity of peritoneal macrophages; a slight shift in the antioxidant-prooxidant system of the brain with a more profound negative effect on the glutathione system. This may indicate a toxic side effect of C60FAS and should be considered in further studies on the use of C60FAS in the treatment of PD. Thus, the paper showed that 6-OHDA-, LPS- and rotenone models of PD are accompanied by disorders from the GI tract. The 6-OHDA model of PD in rats is relevant to the clinical course of PD, and disorders from the GI tract are reproduced even in distant terms after modeling; TRPV4 and TRPM8 ion channels are involved in the pathogenesis of intestinal secretomotor function in the 6-OHDA model of PD in rats, and the regulatory pathways mediated by them are impaired; the aqueous solution of C60FAS is promising for the complex recovery of central symptoms of PD and the motor function of the GI tract in PD, but it shows a toxic side effect in the rat model of 6-OHDA- PD in vivo.

**Державний реєстраційний номер ДіР:**

**Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки:**

**Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності:**

**Підсумки дослідження:**

**Публікації:**

**Наукова (науково-технічна) продукція:**

**Соціально-економічна спрямованість:**

**Охоронні документи на ОПІВ:**

**Впровадження результатів дисертації:**

**Зв'язок з науковими темами:**

## **VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Толстанова Ганна Миколаївна

2. Tolstanova Hanna M.

**Кваліфікація:** д. б. н., 03.00.04

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:**

**Код за ЄДРПОУ:**

**Місцезнаходження:**

**Форма власності:**

**Сфера управління:**

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

## **VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів**

**Офіційні опоненти**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Веклич Тетяна Олександрівна

2. Veklich Tetiana O.

**Кваліфікація:** д. б. н., 03.00.04

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:**

**Код за ЄДРПОУ:**

**Місцезнаходження:**

**Форма власності:**

**Сфера управління:**

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Калачнюк Лілія Григорівна

2. Kalachniuk Liliia H.

**Кваліфікація:** д. б. н., 03.00.04

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:**

**Код за ЄДРПОУ:**

**Місцезнаходження:**

**Форма власності:**

**Сфера управління:**

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

### **Рецензенти**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Цимбалюк Ольга Володимирівна

2. Tsybalyuk Olga V.

**Кваліфікація:** д. б. н., 03.00.02

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:**

**Код за ЄДРПОУ:**

**Місцезнаходження:**

**Форма власності:**

**Сфера управління:**

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Рудик Марія Петрівна

2. Rudyk Mariia P.

**Кваліфікація:** к. б. н., 03.00.09

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:**

**Код за ЄДРПОУ:**

**Місцезнаходження:**

**Форма власності:**

**Сфера управління:**

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

## **VIII. Заключні відомості**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові  
голови ради**

Нурищенко Наталія Євгеніївна

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові  
головуючого на засіданні**

Нурищенко Наталія Євгенівна

**Відповідальний за підготовку  
облікових документів**

**Реєстратор**

**Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є  
відповідальним за реєстрацію наукової  
діяльності**



Юрченко Т.А.