# Облікова картка дисертації

## I. Загальні відомості

**Державний обліковий номер:** 0825U003154

**Особливі позначки:** відкрита

**Дата реєстрації:** 25-07-2025

**Статус:** Захищена

**Реквізити наказу МОН / наказу закладу:**

## II. Відомості про здобувача

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Оліфіров Борис Олексійович
2. Borys O. Olifirov

**Кваліфікація:**

**Ідентифікатор ORCID ID:** 0000-0001-9915-7769

**Вид дисертації:** доктор філософії

**Аспірантура/Докторантура:** так

**Шифр наукової спеціальності:** 091

**Назва наукової спеціальності:** Біологія

**Галузь / галузі знань:** біологія

**Освітньо-наукова програма зі спеціальності:** Біологія та біохімія (Біофізика, фізіологія людини і тварин, патологічна фізіологія)

**Дата захисту:** 15-09-2025

**Спеціальність за освітою:** 105 Прикладна фізика та наноматеріали

**Місце роботи здобувача:** Інститут фізіології імені О. О. Богомольця Національної академії наук України

**Код за ЄДРПОУ:** 05417093

**Місцезнаходження:** вул. Богомольця, буд. 4, Київ, 01024, Україна

**Форма власності:** Державна

**Сфера управління:** Національна академія наук України

**Ідентифікатор ROR:**

## III. Відомості про організацію, де відбувся захист

**Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради):** PhD 10667

**Повне найменування юридичної особи:** Інститут фізіології імені О. О. Богомольця Національної академії наук України

**Код за ЄДРПОУ:** 05417093

**Місцезнаходження:** вул. Богомольця, буд. 4, Київ, 01024, Україна

**Форма власності:** Державна

**Сфера управління:** Національна академія наук України

**Ідентифікатор ROR:**

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

**Повне найменування юридичної особи:** Інститут фізіології імені О. О. Богомольця Національної академії наук України

**Код за ЄДРПОУ:** 05417093

**Місцезнаходження:** вул. Богомольця, буд. 4, Київ, 01024, Україна

**Форма власності:** Державна

**Сфера управління:** Національна академія наук України

**Ідентифікатор ROR:**

## V. Відомості про дисертацію

**Мова дисертації:** Українська

**Коди тематичних рубрик:** 34.17.15, 34.17.23, 34.39.17, 34.39.23, 34.05.17

### Тема дисертації:

1. Участь гіпокальцину в NMDA-рецептор залежній довготривалій синаптичній депресії
2. Hippocalcin involvement in NMDA receptor-dependent long-term synaptic depression

### Реферат:

1. Довготривала синаптична пластичність є фізіологічним підґрунтям процесів запам’ятовування, набуття навичок і формування досвіду. Одним з основних різновидів довготривалої пластичності в глутаматергічних синапсах є NMDA-рецептор залежна довготривала синаптична депресія (long-term depression/LTD). В основі розвитку LTD є тривале зменшення кількості глутаматних AMPA-рецепторів на мембрані постсинаптичного нейрона, що призводить до зниження здатності окремих синапсів передавати збудливі сигнали. Широко відомо, що розвиток LTD відбувається у відповідь на тривалу, але низькочастотну, активацію синапсів і вторинним посередником в цьому процесі виступають іони Ca2+ які на початкових етапах індукції LTD надходять через активовані глутаматні NMDA-рецептори. Подальші сигнальні каскади провокують дисоціацію AMPA-рецепторів з ділянки постсинаптичної щільності та їх вилучення з плазматичної мембрани дендрита шляхом клатрин-опосередкованого ендоцитозу (clathrin-mediated endocytosis/CME). Однак точні

механізми що забезпечують Ca2+-залежність і локалізацію CME в процесі індукції LTD залишались маловивченими. Наявні дослідження висували нейронний Ca2+-сенсорний білок гіпокальцин (hippocalcin/HPCA) на роль потенційної сигнальної ланки в індукції LTD. Особливість HPCA полягає в наявності міристильного перемикача, залишку жирної кислоти на N-кінці білка, що вивільняється з гідрофобної кишеньки молекули після зв'язування з Ca2+. Це обумовлює здатність HPCA до Ca2+-залежного та оборотного вбудовування до ліпідних мембран. Згідно з попередніми дослідженнями, HPCA забезпечує Ca2+-залежне доставлення до поверхні мембран комплексу адаптерних білків 2, що взаємодіє з AMPA-рецепторами та ініціює CME. Однак ці дослідження ґрунтувались виключно на біохімічних, імунологічних на непрямих електрофізіологічних методах, без прямого спостереження за досліджуваними білками в процесі індукції LTD. Тому метою дисертаційного дослідження було визначити участь HPCA в процесі індукції NMDA-рецептор залежної LTD з використанням методів флуоресцентного мічення білків і флуоресцентної візуалізації їх переміщень і взаємодій у живих клітинах. Для фармакологічної індукції NMDA-рецептор залежної LTD в первинній культурі нейронів гіпокампа було розроблено та валідовано нову методику тривалих локальних іонофоретичних прикладань NMDA. Новий підхід дозволив гнучко та ефективно моделювати LTD у поодиноких нейронах. Можливість застосовувати іонофорез для тривалих прикладань будь-яких полярних водорозчинних речовин в широкому спектрі експериментальних підходів робить створений метод перспективною альтернативою обробки всіх клітин в зразку розчином із фармакологічними препаратами (bath-application). У дослідах із використанням флуоресцентної мітки постсинаптичної щільності (PSD95) було оцінено просторові характеристикам Ca2+-залежного перерозподілу HPCA в дендритному дереві у відповідь на активацію NMDA-рецепторів. Виявлено, що регіони вбудовування HPCA є гетерогенними вздовж всього дендритного дерева та спостерігається значне накопичення HPCA в дендритних шипиках. Важливо зауважити, що вбудування HPCA в межах дендритних шипиків спостерігались виключно в регіонах, що оточували постсинаптичну щільність. Виявлені регіони цитоморфологічно відповідають зонам ендоцитозу, регіонам що забезпечують активне вилучення синаптичних рецепторів. Подальші прямі спостереження за взаємною локалізацією та потенційною взаємодією між HPCA та □-субодиницею комплексу адаптерних білків 2 (AP2B1) як у контрольних умовах, так і процесі індукції LTD були проведені з використанням підходів для детектування Фьорстеровського резонансного перенесення енергії (FRET). В структурі дендритних шипиків було виявлено значущі рівні FRET до початку індукції LTD. Натомість у відповідь на протокол індукції LTD збільшення рівнів FRET спостерігалось як в дендритних шипиках, так і значних ділянках вздовж стовбуру дендрита, а по завершенню протоколу величина FRET не демонструвала повернення до початкових значень. Це є вагомими свідченнями щодо взаємодії між HPCA та AP2B1, яка може обумовлювати як конститутивний трафік рецепторів в зонах ендоцитозу дендритних шипиків, так і необоротне збільшення рівня ендоцитозу AMPA-рецепторів на стадіях індукції та підтримання LTD.

2. Long-term synaptic plasticity is the physiological basis for memory, skill acquisition, and experience formation. One of the main types of long-term plasticity in glutamatergic synapses is NMDA receptor-dependent long-term depression (LTD). The induction of LTD is based on a prolonged decrease in the number of AMPA receptors on the postsynaptic membrane, which leads to a decrease in the possibility of individual synapses transmitting excitatory signals. LTD is well characterised as developing in response to prolonged low-frequency synaptic stimulation, during which an influx of Ca2+ through activated NMDA receptors in the early induction phase serves as a key secondary messenger in the signalling cascade. Further signalling pathways trigger the dissociation of AMPA receptors from the postsynaptic density and their removal from the dendrite plasma membrane by clathrin-mediated endocytosis (CME). However, the exact mechanisms that ensure Ca2+ dependence and CME localisation in the process of LTD induction remain poorly described. Recent studies have suggested that the neuronal Ca2+-sensor protein hippocalcin (HPCA) plays a role as a potential signalling link in LTD induction. The distinctive feature of HPCA is the presence of a myristoyl switch: the fatty acid residue at the N-terminus of the protein that protrudes from the molecule's hydrophobic pocket after Ca2+ binding. This defines HPCA's capacity for reversible, calcium-dependent insertion into lipid membranes. According to the previous studies, HPCA acts as a Ca2+-

dependent shuttle to the plasma membrane surface for the adapter protein complex 2, which interacts with AMPA receptors and initiates CME. However, these studies were based exclusively on biochemical, immunological, and indirect electrophysiological methods, without directly observing HPCA signalling during LTD induction. Therefore, the dissertation research aimed to investigate the involvement of HPCA in the induction of NMDA receptor-dependent LTD using live-cell fluorescence imaging approaches to capture dynamic molecular interactions. A new method of prolonged local iontophoretic application of NMDA was developed and validated for the pharmacological induction of NMDA receptor-dependent long-term depression (LTD) in cultured hippocampal neurons. This new approach enables flexible and effective modelling of LTD in individual neurons. The protocol developed for prolonged iontophoretic applications can be used with any water-soluble ionic compound and is an effective alternative to the bath-application technique in a wide range of experimental designs. Experiments involving a fluorescent marker of postsynaptic density (PSD95) were conducted to evaluate the spatial characteristics of Ca2+-dependent HPCA redistribution in the dendritic tree in response to NMDA receptor activation. The results indicated that sites of HPCA insertion in the plasma membrane are heterogeneous along the dendritic tree, with a significant accumulation of HPCA observed in dendritic spines. Notably, HPCA insertions within dendritic spines were exclusively observed in the direct vicinity of the postsynaptic density. These regions cytomorphologically correspond to endocytosis zones, regions of active synaptic receptors' endocytosis. Further direct observations were conducted using Förster resonance energy transfer (FRET) approaches to investigate the mutual localisation and potential interaction between HPCA and the □-subunit of the adapter protein complex 2 (AP2B1) in both control and during induction of the LTD. Significant levels of FRET were detected in the dendritic spines in the control before the LTD induction. Concurrently, LTD induction protocol triggered an elevation in FRET signals observed both within dendritic spines and across prominent regions along the dendritic shaft. Upon completion of the protocol, the FRET values did not return to their initial value, indicating the prolonged HPCA and AP2B1 interaction. Overall our results demonstrate an interaction between HPCA and AP2B1, which may underlie HPCA involvement in both the constitutive AMPA receptor trafficking in the endocytic zones of dendritic spines and Ca2+-dependent AMPA receptor endocytosis in different dendritic tree regions during the induction and maintenance of LTD.

**Державний реєстраційний номер ДіР:** 0124U001556

**Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки:** Фундаментальні наукові дослідження з найбільш важливих проблем розвитку науково-технічного, соціально-економічного, суспільно-політичного, людського потенціалу для забезпечення конкурентоспроможності України у світі та сталого розвитку суспільства і держави

**Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності:** Впровадження нових технологій та обладнання для якісного медичного обслуговування, лікування, фармацевтики

**Підсумки дослідження:** Нове вирішення актуального наукового завдання

**Публікації:**

- Ye. Sheremet, B. Olifirov, A. Okhrimenko, V. Cherkas, O. Bagatskaya, P. Belan (2020) Hippocalcin Distribution Between the Cytosol and Plasma Membrane of Living Cells. Neurophysiology 52(1).
- B. Olifirov, O. Fedchenko, A. Dovgan, D. Babets, V. Krotov, V. Cherkas, P. Belan (2025). Local Iontophoretic Application for Pharmacological Induction of Long- Term Synaptic Depression. Bio-protocol 15(11): e5338.

**Наукова (науково-технічна) продукція:** методи, теорії, гіпотези

**Соціально-економічна спрямованість:** поліпшення якості життя та здоров'я населення, ефективності діагностики та лікування хворих

**Охоронні документи на ОПІВ:**

**Впровадження результатів дисертації:** Планується до впровадження

**Зв'язок з науковими темами:** 0124U001556, 0123U102767

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

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Білан Павло Володимирович
2. Bilan Pavlo V.

**Кваліфікація:** д. б. н., професор, 03.00.02

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:** Інститут фізіології імені О. О. Богомольця Національної академії наук України

**Код за ЄДРПОУ:** 05417093

**Місцезнаходження:** вул. Богомольця, буд. 4, Київ, 01024, Україна

**Форма власності:** Державна

**Сфера управління:** Національна академія наук України

**Ідентифікатор ROR:**

## VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

**Офіційні опоненти**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Жолос Олександр Вікторович
2. Oleksandr V. Zholos

**Кваліфікація:** д.б.н., професор, 03.00.02

**Ідентифікатор ORCID ID:** 0000-0002-4320-149X

**Додаткова інформація:**

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

**Код за ЄДРПОУ:** 02070944

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

**Форма власності:**

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

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Крисанова Наталія Валеріївна

2. Krysanova Nataliya V.

**Кваліфікація:** к. б. н., с.н.с., 03.00.04

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:** Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна Національної академії наук України

**Код за ЄДРПОУ:** 05417288

**Місцезнаходження:** вул. Леонтовича, буд. 9, Київ, 01054, Україна

**Форма власності:** Державна

**Сфера управління:** Національна академія наук України

**Ідентифікатор ROR:**

**Рецензенти**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Романенко Сергій Вячеславович

2. Serhii V. Romanenko

**Кваліфікація:** к. б. н., ст.н.с., 03.00.02

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:** Інститут фізіології імені О. О. Богомольця Національної академії наук України

**Код за ЄДРПОУ:** 05417093

**Місцезнаходження:** вул. Богомольця, буд. 4, Київ, 01024, Україна

**Форма власності:** Державна

**Сфера управління:** Національна академія наук України

**Ідентифікатор ROR:**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Цупіков Олег Михайлович

2. Oleg M. Tsupykov

**Кваліфікація:** д. мед. н., пров.н.с., 03.00.13

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:** Інститут фізіології імені О. О. Богомольця Національної академії наук України

**Код за ЄДРПОУ:** 05417093

**Місцезнаходження:** вул. Богомольця, буд. 4, Київ, 01024, Україна

**Форма власності:** Державна

**Сфера управління:** Національна академія наук України

**Ідентифікатор ROR:**

## VIII. Заключні відомості

| | |
|---|---|
| **Власне Прізвище Ім'я По-батькові голови ради** | Скібо Галина Григорівна |
| **Власне Прізвище Ім'я По-батькові головуючого на засіданні** | Скібо Галина Григорівна |
| **Відповідальний за підготовку облікових документів** | Оліфіров Борис Олексійович |
| **Реєстратор** | УкрІНТЕІ |
| **Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є відповідальним за реєстрацію наукової діяльності** | Юрченко Тетяна Анатоліївна |