Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0521U102076

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 16-12-2021

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Данилович Ганна Вікторівна
2. Hanna V. Danylovych

Кваліфікація: д. б. н., с.д., 03.00.04

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: доктор наук

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 03.00.04

Назва наукової спеціальності: Біохімія

Галузь / галузі знань: Не застосовується

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 06-12-2021

Спеціальність за освітою: біологія

Місце роботи здобувача: 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:

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): Д 26.240.01

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:

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

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:

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації: Українська

Коди тематичних рубрик: 31.27, 34.15

Тема дисертації:

1. Біосинтез та регуляторна роль оксиду азоту в мітохондріях гладенького м'яза

2. Biosynthesis and regulatory role of nitric oxide in smooth muscle mitochondria

Реферат/анотація:

1. Дисертаційна робота присвячена дослідженню біохімічних закономірностей біосинтезу NO в мітохондріях гладеньком'язових клітин матки, вивченню молекулярних механізмів дії оксиду азоту як можливого ендогенного специфічного регулятора концентрації Ca2+ в міоцитах й функціонування Ca2+-транспортувальних систем мітохондрій, біоенергетичних процесів (активності електрон-транспортувального ланцюгу та поляризації їхньої внутрішньої мем-брани) та впливу калікс[4]аренів – екзогенних нетоксичних модуляторів функціональної активності мітохондрій – на NO-синтазну здатність, біоенергетику та Ca2+-гомеостаз органел. Із застосуванням NO-чутливого флуоресцентного зонду DAF-FM, методів лазерної конфокальної мікроскопії та протокової цитометрії нами вперше про-демонстровано утворення NO в гладеньком'язових клітинах матки. Доведено, що потужним джерелом NO у гладеньком'язових клітинах матки є мітохондрії. Синтез NO в мітохондріях є чутливим до інгібіторів

конститутивних NO-синтаз (NG-нітро-L-аргініна та 2-амінопіридина) та Ca2+-уніпортера, пригнічується антагоністами кальмодуліну (кальмідазоліумом і трифлюоперазином), іонами Mg, суттєво залежить від рівня енергізації внутрішньої мітохондрійної мембрани. Значення уявної константи Міхаеліса за L-аргініном та константи активації за Ca2+реакції біосинтезу NO знаходяться в межах фізіологічних значень їх концентрацій у матриксі мітохондрії. Також продемонстровано, що джерелами оксиду азоту в міоцитах можуть виступати NO-синтази, асоційовані з плазматичною мембраною та саркоплазматичним ретикулумом. У мітохондріях гладенького м'язу матки NO стимулює акумуляцію Ca2+, шляхом активації саме Ca2+-уніпортера. Система вивільнення Ca2+ з мітохондрій – H+-Ca2+-обмінник, який презентований протеїном LETM 1, є резистентною до впливу оксиду азоту. NO викликає помірне зниження електричного потенціалу на внутрішній мембрані органел, обумовлене пригніченням роботи комплексів дихального ланцюга, а саме гальмуванням окислення FADH2, і протидіє процесам набухання органел, спричиненим висококальцієвим розчином. Продемонстровано, що оксид азоту пригнічує шляхи підвищення концентрації іонів Ca в міоплазмі у разі дії на міоцити карбахолу та окситоцину, а також викликає збільшення характеристичних розмірів міоцитів. Поляризуючий ефект оксиду азоту обумовлений зростанням K+-проникності плазмалеми і залежить від іонів Ca, а також cGMP-залежним стимулюванням активності Na+,K+-АТРази. Запропоновано схему біохімічних механізмів регуляторної дії NO на рівні мітохондрій та плазматичної мембрани в міоцитах матки. Створено імітаційну модель у термінах функціональних гібридних мереж Петрі, яка відтворює функціональну активність мітохондрій, а саме одночасне протікання процесів окислення NADH/FADH2, утворення активних форм кисню та зміни їхнього гідродинамічного діаметру. Отримані рівняння формалізують та описують концентраційно-часові залежності перебігу перелічених процесів у середовищі за дії азиду натрія, який у літературі розглядають як непрямий донор NO, з можливістю передбачення інтенсивності їхнього протікання. Зокрема, було спрогнозовано відповідь мітохондрій у часі на дію NaN3 в концентрації, яка не використовувалася в експерименті. Продемонстровано можливість проникнення калікс[4]арена С-956 у міоплазму клітин та його взаємодію з мітохондріями. Калікс[4]арен С-956 ефективно інгібує H+-Ca2+-обмінник мітохондрій, не впливаючи на енергозалежну акумуляцію Ca2+, стимулює мітохондрійну NO-синтазу, гальмує окислення NADH та FADH2 в електрон-транспортувальному ланцюзі. Сполуки С-97, С-99 та С-107 викликають деполяризацію плазматичної мембрани міоцитів матки. Взаємодіючи з мітохондріями, вони викликають інгібування Ca2+-уніпортера і одночасну стимуляцію її H+-Ca2+-обмінника (С-97, С-99), помірне пригнічення активності мітохондрійної NO-синтази. Поряд з цим має місце транзієнтна гіперполяризація мітохондрійної мембрани, яка пов'язана з початковим посиленням окислення NADH та стимулюванням електрогенного H+-Ca2+-обмінника. Відсутність впливу всіх досліджуваних калікс[4]аренів на утворення активних форм кисню в мітохондріях може вказувати на користь того, що процеси, які активуються/гальмуються за їх присутності, не призводять до шкідливих для органел наслідків (тобто розвитку мітохондрійної дисфункції). Таким чином, калікс[4]арени, шляхом посилення/пригнічення біосинтезу NO, змінюючи активність систем транспорту Ca2+, можуть мати модулюючий вплив на функціонування комплексів дихального ланцюга і біоенергетику мітохондрій та бути використаними в біохімічних дослідженнях як регулятори скорочення/розслаблення міометрія.

2. The dissertation is devoted to the investigation of biochemical properties of NO biosynthesis in uterine smooth muscle mitochondria, as well as to the study of molecular mechanisms of nitric oxide action as a possible specific endogenous regulator of Ca2+ concentration in myocytes, mitochondrial Ca2+-transport systems functioning, and bioenergetic processes (electron transport chain activity and inner mitochondrial membrane polarization) and to the study of the effect of calix[4]arenes – exogenous non-toxic modulators of mitochondrial functional activity – on NO-synthase capacity, bioenergetics and Ca2+-homeostasis of the organelles. With the use of NO-sensitive fluorescent probe DAF-FM, laser confocal microscopy and flow cytometry, we demonstrated for the first time the formation of NO in uterine smooth muscle cells. Mitochondria have been shown to be a potent source of NO in uterine smooth muscle cells. The NO synthesis in mitochondria is sensitive to inhibitors of constitutive NO synthases (NG-nitro-L-arginine and 2-aminopyridine) and Ca2+-uniporter. In addition, it is inhibited by calmodulin antagonists (calmidazolium and trifluoperazine), Mg ions, and is largely dependent on the level of inner

mitochondrial membrane energization. The values of the apparent Michaelis constant by L-arginine and the activation constant by the Ca2+ for reaction of NO biosynthesis are within the physiological values of their concentrations in the mitochondrial matrix. It has also been shown that NO synthases associated with the plasma membrane and sarcoplasmic reticulum may be nitric oxide sources in my-ocytes. In uterine smooth muscle mitochondria NO stimulates Ca2+ accumulation through the Ca2+-uniporter activation. The system of Ca2+ release from mitochondria – the H+-Ca2+-exchanger, which is presented by the protein LETM 1, is resistant to nitric oxide influence. NO causes a moderate decrease in the electric potential on the inner membrane of the organelles due to the inhibition of the respiratory chain complexes, namely the inhibition of FADH2 oxidation, and counteracts the swelling of the organelles caused by calcium-rich solution. It has been shown that nitric oxide inhibits the pathways that increase Ca ions concentration in the myoplasm under the effect of carbachol and oxytocin on myocytes, and also causes an increase in the characteristic size of myocytes. The polarizing effect of nitric oxide is due to the increase in K+-permeability of the plasmalemma and depends on Ca ions, as well as due to the cGMP-dependent stimulation of Na+,K+-ATPase activity. The scheme representing biochemical mechanisms of NO regulatory effects at the level of mitochondria and plasma membrane in uterine myocytes is proposed. A simulation model in terms of functional hybrid Petri nets was created. The latter reproduces the functional activity of mitochondria, namely the simultaneous oxidation of NADH/FADH2, the formation of reactive oxygen species and changes in their hydrodynamic diameter. The obtained equations formalize and describe the concentration-time dependencies of the course of the listed processes in the medium under the action of sodium azide, which is considered as an indirect donor of NO in the literature, with the possibility of predicting their course intensity. In particular, the response of mitochondria over time to the action of NaN3 at a concentration that has not been used in the experiment was predicted. The possibility of calix[4]arene C-956 penetration into cell myoplasm and its interaction with mitochondria has been demonstrated. Calix[4]arene C-956 effectively inhibits mitochondrial H+-Ca2+-exchanger, without affecting the energy-dependent Ca2+ accumulation, stimulates mitochondrial NO-synthase, and inhibits the NADH and FADH2 oxidation in the electron transport chain. Compounds C-97, C-99 and C-107 cause depolarization of the uterine myocytes plasma membrane. Upon interaction with mitochondria, they cause Ca2+-uniporter inhibition and simultaneous stimulation of its H+-Ca2+-exchanger (C-97, C-99), and moderate inhibition of mitochondrial NO-synthase activity. In addition, there is a transient hyperpolarization of the mitochondrial membrane, which is associated with an initial increase in NADH oxidation and, possibly, stimulation of the electrogenic H+-Ca2+-exchanger. The ab-sent influence of all studied calix[4]arenes on the formation of reactive oxygen species in mitochondria may indicate that the activated/inhibited in their presence processes do not lead to harmful effects in these organelles (i.e. to the development of mitochondrial dysfunction). Thus, through NO biosynthesis enhancement/inhibition by altering the activity of Ca2+ transport systems, calix[4]arenes can have a modulatory effect on the respiratory chain complexes functioning and mitochondrial bioenergetics and can be used in biochemical studies as myometrial contraction/relaxation regulators.

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. Костерін Сергій Олексійович

2. Kosterin Sergiy O

Кваліфікація: д. б. н., професор, академік НАНУ, 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. Костерін Сергій Олексійович

2. Kosterin Sergiy O

Кваліфікація: д. б. н., професор, академік НАНУ, 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. Стойка Ростислав Стефанович

2. Stoyka Rostyslav S

Кваліфікація: д.б.н., професор, член-кор., 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. Акопова Ольга Валеріївна

2. Akopova Olha V.

Кваліфікація: д. б. н., с.н.с., 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. Цимбалюк Ольга Володимирівна

2. Tsymbaliuk Olha V.

Кваліфікація: д. б. н., доц., 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

Рецензенти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Борисова Тетяна Олександрівна

2. Borysova Tetiana O.

Кваліфікація: д. б. н., професор, 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. Цимбалюк Ольга Володимирівна

2. Tsymbalyuk Olga V.

Кваліфікація: д. б. н., доц., 03.00.02

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

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. Акопова Ольга Валеріївна

2. Akopova Olha V.

Кваліфікація: д. б. н., с.н.с., 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

VIII. Заключні відомості

Власне Прізвище Ім'я По-батькові голови ради	Костерін Сергій Олексійович
Власне Прізвище Ім'я По-батькові головуючого на засіданні	Великий Микола Миколайович
Відповідальний за підготовку облікових документів	Карлова Н.П.
Реєстратор	УкрІНТЕІ
Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є відповідальним за реєстрацію наукової діяльності	Юрченко Тетяна Анатоліївна