

# Облікова картка дисертації

## I. Загальні відомості

**Державний обліковий номер:** 0520U100279

**Особливі позначки:** відкрита

**Дата реєстрації:** 07-07-2020

**Статус:** Захищена

**Реквізити наказу МОН / наказу закладу:**



## II. Відомості про здобувача

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Грищенко Олексій Вадимович
2. Gryshchenko Oleksii Vadimovich

**Кваліфікація:** к. б. н., 03.00.02

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Вид дисертації:** доктор наук

**Аспірантура/Докторантура:** ні

**Шифр наукової спеціальності:** 03.00.13

**Назва наукової спеціальності:** Фізіологія людини і тварин

**Галузь / галузі знань:** Не застосовується

**Освітньо-наукова програма зі спеціальності:** Не застосовується

**Дата захисту:** 30-06-2020

**Спеціальність за освітою:** фізика

**Місце роботи здобувача:** Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України

**Код за ЄДРПОУ:** 05417093

**Місцезнаходження:** вул. Богомольця, 4, м. Київ, Київська обл., 01024, Україна

**Форма власності:**

**Сфера управління:** Національна академія наук України

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

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

**Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради):** Д 26.198.01

**Повне найменування юридичної особи:** Інститут фізіології ім. Богомольця Національна академія наук України

**Код за ЄДРПОУ:** 00000000

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

**Форма власності:**

**Сфера управління:** Національна академія наук України

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

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

**Повне найменування юридичної особи:** Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України

**Код за ЄДРПОУ:** 05417093

**Місцезнаходження:** вул. Богомольця, 4, м. Київ, Київська обл., 01024, Україна

**Форма власності:**

**Сфера управління:** Національна академія наук України

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

### **V. Відомості про дисертацію**

**Мова дисертації:**

**Коди тематичних рубрик:** 34.39

**Тема дисертації:**

1. Впливи мутацій кальційзв'язуючих білків та змін депозалежного входу іонів кальцію на функціонування збудливих та незбудливих клітин
2. Effects of calcium-binding protein mutations and changes in the store-operated calcium entry on the function of excitable and non-excitable cells. –

**Реферат:**

1. У роботі представлені результати комплексного дослідження клітинних та молекулярних механізмів, залучених до кальцієвої регуляції в клітинах різних типів. У кардіоміоцитах як типових представниках електрозбудливих клітин, що здатні до скорочення, показана важлива роль кальційзв'язуючих білків у формуванні та регуляції змін внутрішньоклітинної концентрації іонів кальцію. Проаналізовано зміни електричних характеристик потенціалів дій та біофізичних параметрів скорочення кардіоміоцитів, викликаних мутаційними модифікаціями молекул тропоніну Т, що збільшує чутливість міофіламентів кардіоміоцитів до іонів кальцію. Показано, що з ростом чутливості міофіламентів пропорційно збільшується буферна кальцієва здатність клітин, і саме цим можуть бути пояснені зміни електричної та скорочувальної активності “мутантних” кардіоміоцитів. В електрично незбудливих клітинах одну з провідних ролей у

підвищенні внутрішньоклітинної концентрації іонів кальцію відіграють кальцієві канали, що активуються вивільненням цих іонів із ендоплазматичного ретикулу та його спустошенням. За допомогою методу "patchclamp" вперше зареєстровані кальцієві струми в ацинарних клітинах, що виникають у відповідь на спустошення ретикулу. Експериментально продемонстровано пряму кореляцію між спустошенням ендоплазматичного ретикулу та активацією депозалежного струму. Доведено, що саме вхід іонів кальцію через депозалежні канали являє собою основний фактор, що призводить до некрозу клітин при більшості патологій, котрі призводять до виникнення гострого панкреатиту. Із застосуванням конфокальної мікроскопії з'ясовані механізми кальцієвої регуляції в клітинах лобул екзокринної частини підшлункової залози, зокрема в нервових, зірчастих та імунних клітинах. Встановлено, що зірчасті клітини в звичайних умовах (за відсутності патологій) здатні генерувати кальцієві транзйєнти у відповідь на прикладання брадикініну; описані механізми виникнення і генерації цих кальцієвих транзйєнтів. В роботі вперше описані вірогідні механізми виникнення гострого панкреатиту, спричиненого дією аспарагінази і експериментально обґрунтовано можливий новий підхід у терапії гострого панкреатиту; в основі такого підходу лежить застосування галактози, що забезпечує адекватне регулювання необхідної концентрації АТФ в ацинарних клітинах підшлункової залози.

2. Using cardiomyocytes isolated from mice expressing troponin T mutants (TnT-I79N, TnT-F110I and TnT-R278C), we found that increasing myofilament Ca sensitivity produced a proportional increase in cytosolic Ca<sup>2+</sup> binding. The underlying cause was an increase in the cytosolic Ca<sup>2+</sup> binding affinity, whereas maximal Ca<sup>2+</sup> binding capacity was unchanged. The effect was sufficiently large to alter Ca<sup>2+</sup> handling in intact mouse hearts at physiological heart rates, resulting in increased end-diastolic [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> at fast pacing rates, and enhanced sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> content and release after pauses. Basing on the observation that early stage embryonic stem cells-derived cardiomyocytes continuously contracted in high extracellular potassium solution, we provide experimental evidence that the spontaneous activity of these cells is not generated by transmembrane ion currents, but by intracellular [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> oscillations. In cardiac muscle, Ca<sup>2+</sup> release from sarcoplasmic reticulum (SR) is reduced with successively shorter coupling intervals of premature stimuli, a phenomenon known as SR Ca<sup>2+</sup> release refractoriness. Gene-targeted ablation of Casq2 (Casq2 KO) abolished SR Ca<sup>2+</sup> release refractoriness in isolated mouse ventricular myocytes. Surprisingly, impaired Ca<sup>2+</sup>-dependent inactivation of L-type Ca<sup>2+</sup> current (ICa), which is responsible for triggering SR Ca<sup>2+</sup> release, significantly contributed to the loss of Ca<sup>2+</sup> release refractoriness in Casq2 KO myocytes. Recovery from Ca<sup>2+</sup>-dependent inactivation of ICa was significantly accelerated in Casq2 KO compared to wild type (WT) myocytes. Alcohol-related acute pancreatitis can be mediated by a combination of alcohol and fatty acids (fatty acid ethyl esters) and is initiated by a sustained elevation of the Ca<sup>2+</sup> concentration inside pancreatic acinar cells ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>), due to excessive release of Ca<sup>2+</sup> stored inside the cells followed by Ca<sup>2+</sup> entry from the interstitial fluid. Electrophysiological data show that in the pancreatic acinar cells this store-operated inward current is relatively insensitive to removing external Na<sup>+</sup>, but sensitive to changes in the external Ca<sup>2+</sup> concentration. It is therefore not a transient receptor potential (TRP) type nonselective cation current, but it is a Ca<sup>2+</sup>-selective CRAC-type current consistent with the very marked current inhibition evoked by GSK-7975A. There is currently no specific treatment of pancreatitis, but the received data show that pharmacological CRAC blockade is highly effective against toxic [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> elevation, necrosis, and trypsin/protease activity and therefore has potential to effectively treat pancreatitis. Asparaginase, an essential element in the successful treatment of acute lymphoblastic leukaemia, the most common type of cancer affecting children, evoked intracellular Ca<sup>2+</sup> release followed by Ca<sup>2+</sup> entry and also substantially reduced Ca<sup>2+</sup> extrusion because of decreased intracellular ATP levels. In isolated mouse pancreatic acinar cells or cell clusters, removal of extracellular glucose had little effect on this ATP loss, suggesting that glucose metabolism was severely inhibited under these conditions. Surprisingly, we show that replacing glucose with galactose prevented or markedly reduced the loss of ATP and any subsequent necrosis. Ca<sup>2+</sup> signalling in different cell types in exocrine pancreatic lobules was monitored simultaneously and signalling responses to various stimuli were directly compared. Normal pancreatic stellate cells (PSCs) are regarded as quiescent, only to become activated in chronic pancreatitis and pancreatic cancer. We have compared Ca<sup>2+</sup> signalling in PSCs and their better studied neighbouring acinar cells

(PACs) and found complete separation of Ca<sup>2+</sup> signalling in even closely neighbouring PACs and PSCs. Bradykinin (BK), at concentrations corresponding to the slightly elevated plasma BK levels that have been shown to occur in the auto-digestive disease acute pancreatitis in vivo, consistently elicited substantial Ca<sup>2+</sup> signals in PSCs, but never in neighbouring PACs, whereas the physiological PAC stimulant cholecystokinin failed to evoke Ca<sup>2+</sup> signals in PSCs. The initial Ca<sup>2+</sup> rise in PSCs was due to inositol trisphosphate receptor-mediated release from internal stores, whereas the sustained phase depended on external Ca<sup>2+</sup> entry through Ca<sup>2+</sup> release-activated Ca<sup>2+</sup> channels. We have, for the first time, recorded depolarization-evoked Ca<sup>2+</sup> signals in pancreatic nerves and shown that, although acinar cells receive a functional cholinergic innervation, there is no evidence for functional innervation of the stellate cells.

**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 ОПВ:**

**Впровадження результатів дисертації:**

**Зв'язок з науковими темами:**

## **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., 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. Білан Павло Володимирович

2. Bilan Pavlo 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

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

### **Офіційні опоненти**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Панова Тетяна Іванівна
2. Panova Tetyana Ivanivna

**Кваліфікація:** д. мед. н., 14.03.03

**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. Соловійов Анатолій Іванович
2. Solovyov Anatoliy I.

**Кваліфікація:** д. мед. н., 14.03.05

**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. 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

**Рецензенти**

## **VIII. Заключні відомості**

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

Кришталь Олег Олександрович

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

Сагач Вадим Федорович

**Відповідальний за підготовку  
облікових документів**

**Реєстратор**

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



Юрченко Т.А.