Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0409U005302

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 03-12-2009

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Король Тетяна Юріївна
2. Korol Tetyana Yuriyivna

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: кандидат наук

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 03.00.02

Назва наукової спеціальності: Біофізика

Галузь / галузі знань: Не застосовується

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 17-11-2009

Спеціальність за освітою: 7.070403

Місце роботи здобувача: Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця

Код за ЄДРПОУ: 05417093

Місцезнаходження: 01024, Київ, вул. Богомольця, 4

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: Міжнародний Центр молекулярної фізіології Національної Академії Наук України

Код за ЄДРПОУ: 16460838

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

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації:

Коди тематичних рубрик: 34.17.43

Тема дисертації:

1. Зміни кальцієвого гомеостазу в нейронах культури гіпокампа щурів при інкубації з бета-амілоїдом

2. Influence of beta-amyloid peptide on calcium signalling in hippocampal cell culture of rats

Реферат/анотація:

1. Дисертація присвячена комплексному дослідженню впливу білка бета(1-42)-амілоїда, основного компонента сенільних бляшок при хворобі Альцгеймера, на кальцієвий гомеостаз нейронів культури гіпокампа щурів, зокрема, на зміни базової концентрації кальцію та функціонування кальцієвих каналів плазматичної мембрани та мітохондрій. За допомогою методу двохвильового вимірювання внутрішньоклітинної концентрації кальцію з використанням мембранопроникної форми флуоресцентного барвника fura-2/AM було показано, що інкубація нейронів культури гіпокампа щурів з бета(1-42)-амілоїдом призводить до статистично достовірного підвищення базового рівня [Ca2+]i. За умов інкубації культури нейронів гіпокампа з бета(1-42)-амілоїдом виявлено достовірне збільшення амплітуди та часу напівспаду кальцієвих транзієнтів, викликаних гіперкалієвою деполяризацією нейронів культури гіпокампа, а також площі транзієнта. За допомогою методу фіксації потенціалу в конфігурації "ціла клітина" встановлено, що

бета(1-42)-амілоїд призводить до достовірного збільшення густини кальцієвих струмів нейронів на 70% порівняно з контрольним значенням. При оцінці кінетичних характеристик потенціалкерованих кальцієвих каналів було встановлено достовірну зміну в кривій стаціонарної активації. При дослідженні кривої стаціонарної інактивації кальцієвих каналів клітин культури гіпокампа після інкубації з бета(1-42)-амілоїдом статистично достовірної різниці порівняно з відповідною кривою, отриманою в контрольних умовах, виявлено не було. При порівнянні кальцієвих транзієнтів, викликаних прикладанням гіперкалієвого розчину та гіперкалієвого розчину з мітохондріальним протонофором СССР, в нейронах культури гіпокампа, інкубованих з бета(1-42)-амілоїдом, статистично достовірної різниці між амплітудами виявлено не було (на відміну від контрольних показників), що може вказувати на порушення кальційзахоплюючої функції мітохондрій. Проведене дослідження систем кальцієвої сигналізації нейронів культури гіпокампа за умов інкубації з бета(1-42)-амілоїдом вказує на їх комплексне порушення, що стосується як механізмів входу кальцію через канальні структури плазматичної мембрани, так і механізмів акумуляції іонів кальцію цитоплазматичними структурами, в першу чергу мітохондріями. Цей комплекс порушень може бути істотним компонентом патологічних змін функцій гіпокампа при хворобі Альцгеймера. Ключові слова: нейрони культури гіпокампа, потенціалкеровані кальцієві канали, бета-амілоїд, хвороба Альцгеймера, мітохондрія.

2. This dissertation is devoted to the investigation of influence of the beta-amyloid peptide, main component of senile plaques in the brain of patients with Alzheimer's disease, on calcium signalling in hippocampal cell culture. Accumulation of beta-amyloid peptide of 42 amino acid length (Abeta(1-42)) in brain is an important characteristic for the etiology of Alzheimer's disease. Of all the possible processes generating the neurotoxic effects by Abeta(1-42), disruption of intracellular Ca2+ homeostasis is the primary event. The aim of the study was to discover changes in basal calcium level and mitochondrial function as well as alterations in properties of voltage-gated calcium channels in hippocampal cell culture with experimental induced Alzheimer's disease. The changes in neuronal Ca2+ homeostasis and voltage-dependent characteristics of calcium channels were revealed in rat hippocampal cell culture at comparison of Ca2+ signalling in control conditions and after 24-hour treatment with Abeta(1-42). The cytoplasmic free Ca2+ concentration ([Ca2+]i) was measured using fura-2 based microfluorometry. Hyperpotassium solution was used for inducing Ca2+ transients. To compare mitochondrial contribution to Ca2+ signals in experimental conditions was used uncoupler of mitochondria CCCP (10 mkM) dissolved in hyperpotassium solution. It was revealed that after 24-hour incubation of hippocampal cell culture with Abeta(1-42) basal level of [Ca2+]i was 138±12 nM vs. 76±8 nM in control conditions ($P < 0.01$, $n = 19$). Amplitude of Ca2+ transient in control conditions was 506±20 nM, and after treatment with Abeta(1-42) this parameter increased to 622±34 nM ($P < 0.05$, $n = 18$). Amplitude of transients induced by hyperpotassium solution with addition of CCCP was 23±3% greater than amplitude of transient induced by hyperpotassium solution alone in control cells. Area of transient that corresponds to amount of cell calcium after incubation of hippocampal cell culture with beta-amyloid peptide was greater than control transient area. After incubation with Abeta(1-42) difference between amplitudes induced by hyperpotassium solution with and without CCCP was not detected that can point to impairment of Ca2+ uptake function of mitochondria during maximal increasing of [Ca2+]i. Moreover, in cells treated with Abeta(1-42) Ca2+ transients induced by hyperpotassium solution with CCCP were higher and broader than that ones in control neurons. Heightened basal level of [Ca2+]i after incubation of cells with Abeta(1-42) may cause to intensification of Ca2+ uptake by mitochondria in cell resting state that may result in overload of organelles. It seems that this may be the reason for impossibility of rapid absorption of Ca2+ by mitochondria during excitation of the cell. Overload of mitochondria with Ca2+ may result in triggering of apoptosis. Current-voltage relationship, steady-state activation and steady-state inactivation curves of voltage-operated calcium channels of hippocampal cell culture were obtained using whole-cell modification of patch clamp technique. Current density in A?-treated cells was 70 % higher ($P < 0.05$, $n = 12$) than in control ones. Current-voltage relation of calcium channels after incubation of hippocampal cell culture with Abeta(1-42) had 10-mV shift to the hyperpolarization direction in comparison with control neurons. Steady-state activation curve of calcium channels in hippocampal cells modified by Abeta(1-42) had 12-mV shift ($P < 0.001$, $n = 10$) to more negative values of

membrane potential as compared to control curve. In contrast with first two voltage dependencies steady-state inactivation curve of voltage-gated calcium channels was not changed after action of Abeta(1-42). Shifts of current-voltage characteristic and steady-state activation curve of voltage-operated calcium channels to the hyperpolarization direction after cell treatment with Abeta(1-42) may point to facilitation in activation of calcium channels. Enhancement of current density after incubation of hippocampal cell culture with Abeta(1-42) lets us suggest that probability of channel open state increases. It is possible that hyperphosphorilation of calcium channel proteins by set of protein kinases induced by action of Abeta(1-42) may be the reason of such changes in voltage dependencies of calcium channels. We conclude that Abeta(1-42) affects voltage-gated calcium channels of hippocampal cell culture by means of some intermediate mechanisms or directly that leads to disturbance in cell calcium homeostasis. Such disturbances in functioning of voltage-gated calcium channels as well as mitochondria may be essential component of pathological alterations of hippocampal functions at Alzheimer's disease. Key words: hippocampal cell culture, beta-amyloid peptide, Alzheimer's disease, calcium channels, mitochondrion.

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. Костюк Олена Платонівна
2. Kostyuk Elena Platonovna

Кваліфікація: д.мед.н., 14.01.14

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. Федулова Світлана Анатоліївна

2. Федулова Світлана Анатоліївна

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. Бачинська Наталія Юріївна

2. Бачинська Наталія Юріївна

Кваліфікація: д.мед.н., 14.01.05

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 Костюк Платон Григорович

Власне Прізвище Ім'я По-батькові головуючого на засіданні Костюк Платон Григорович

Відповідальний за підготовку облікових документів

Реєстратор

Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є відповідальним за реєстрацію наукової діяльності



Юрченко Т.А.