

# Облікова картка дисертації

## I. Загальні відомості

**Державний обліковий номер:** 0420U100846

**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. Котик Олена Адамівна

2. Kotyk Olena A.

**Кваліфікація:** 03.00.13

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Вид дисертації:** кандидат наук

**Аспірантура/Докторантура:** так

**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:** 23-06-2020

**Спеціальність за освітою:** біологія

**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. ЕЛЕКТРОФІЗІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ КАТІОННИХ КАНАЛІВ ВЕЛИКОЇ ПРОВІДНОСТІ ТА ІНОЗИТОЛ-1,4,5-ТРИФОСФАТНИХ РЕЦЕПТОРІВ ЯДЕРНОЇ МЕМБРАНИ КАРДІОМІОЦИТІВ
2. Electrophysiological properties of large conductance cation channels and inositol-1,4,5-trisphosphate receptors of the cardiomyocyte nuclear membrane

**Реферат:**

1. Серед спонтанно активних іонних каналів внутрішньої ядерної мембрани кардіоміоцитів, найчастіше реєстрували струм через LCC-канали з провідністю  $209 \pm 13$  пСм. Ці канали характеризуються потенціалзалежністю, вибірковою проникністю одновалентних катіонів  $K^+$  та  $Na^+$  і непроникністю  $Cl^-$  та  $Ca^{2+}$ . Послідовність ефективності інгібування LCC-каналів ядерної мембрани кардіоміоцитів агоністами та інгібіторами н-холінорецепторів і зміїними токсинами виглядає так: Dh $\alpha$ E > d-тубокурарин  $\approx$  нікотин > NT II > dFB $\alpha$  > дитилін  $\approx$  атракуріум  $\approx$  піпекуронію бромід > рокуронію бромід > п-CTX. Не впливають на досліджувані канали: гексаметоній, п-коботоксин PeIA, MLA, PNU 282987 і карбахолін. Ро IP3-рецепторів внутрішньої ядерної мембрани кардіоміоцитів є потенціалзалежною, зростає зі збільшенням концентрації IP3 (максимум за 10 мкмоль/л IP3 у середовищі). IP3-рецептори також характеризуються різною чутливістю до  $Ca^{2+}$ : для

частини притаманна класична дзвоноподібна залежність від його концентрації (з повним інгібуванням за 1 мкмоль/л  $\text{Ca}^{2+}$ ), тоді як для іншої частини графік залежності  $P_o$  від концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  зміщений праворуч й інгібування починається за 10 мкмоль/л  $\text{Ca}^{2+}$ . Отже, у ядерній мембрані кардіоміоцитів наявні два підтипи  $\text{IP}_3$ -рецепторів, котрі відрізняються за чутливістю  $\text{Ca}^{2+}$  та LCC-канали, котрі з різною ефективністю інгібуються агоністами й інгібіторами n-холінорецепторів.

2. For the first time, several types of spontaneously active channels with different conductance (from 10–340 pS) have been detected in the inner nuclear membrane of cardiomyocytes. Among them, LCC-channels with conductance  $209 \pm 13$  pS are the most expressed. These channels have relatively slow kinetics; at positive potentials (+40 mV) they remain in the open state most of the time ( $N_{Po} = 3.11$ ), whereas at negative potentials (-40 mV) their activity decreases ( $N_{Po} = 0.72$ ).  $\text{K}^+$  ions permeate well through LCC-channels, to a lesser extent  $\text{Na}^+$ , and LCC-channels are impermeable to Cl and divalent  $\text{Ca}^{2+}$  cations. Relatively high density combined with high conductance of LCC-channels in the nuclear membrane indicates their important physiological role in regulating nuclear functions. Purified neurotoxin II at a concentration of 25  $\mu\text{M}$  reduces amplitude of the current through these channels by 13%. After applying 1–2 mM of  $\alpha$ -cobratoxin, a slight channel flickering is observed. The effects of all tested substances are reversed – after washing with the working solution, current through the LCC-channels returns to the control values. Under the influence of d-tubocurarine (200  $\mu\text{M}$ ), the amplitude of the current through the nuclear membrane's LCC-channels in cardiomyocytes decreases by 45%. Under the influence of 25  $\mu\text{M}$  Dh $\beta$ E, a 40% decrease in current through the channel is observed. At high concentrations of atracurium and dithylinum,  $P_o$  decreases and channel flickering is observed, indicating physical blockade of the channel pore in its open state. However, there is no complete blocking even at 2 mM blocker concentration. Nondepolarizing neuromuscular relaxant rocuronium bromide dose-dependently reduces current amplitude through the channels, inhibits them by half at concentration of 2 mM and reduces probability of them being in an open state by half. A similar effect on LCC-channels functional activity is induced by pipecuronium bromide. Other investigated n-cholinoinhibitors – hexamethonium, MLA,  $\alpha$ -conotoxin PeIA were proved ineffective. In the following series of experiments, the effects of ncholinoreceptor agonists are tested. In particular, nicotine at a concentration of 10 to 200  $\mu\text{M}$  dose-dependently decreases current amplitude through LCC-channels. After dFBr 23 application at a concentration of 200  $\mu\text{M}$ , the amplitude of the current through the channel decreases by 21% and channel flickering is observed. Whereas, other investigated ncholinoreceptor agonists – PNU 282987 and carbachol did not cause statistically significant changes in LCC-channels functioning. The most effective among tested n-cholinoreceptor agonists and inhibitors and also snake toxins are: Dh $\beta$ E > d-tubocurarine  $\approx$  nicotine > NT II > dFBr > dithylinum  $\approx$  atracurium  $\approx$  pipecuronium bromide > rocuronium bromide >  $\alpha$ -CTX. In the nuclear membrane of cardiomyocytes, a channel that is activated by  $\text{IP}_3$  (0.2–20  $\mu\text{M}$ ) and inhibited by 2-APB (50  $\mu\text{M}$ ) was detected. On this basis, we concluded that the channel is  $\text{IP}_3\text{Rs}$ . It's known from the literature that the most expressed  $\text{IP}_3\text{Rs}$  in cardiomyocytes are type II and we have confirmed that via immunohistochemical analysis. Probability of  $\text{IP}_3\text{Rs}$  being in open state ( $P_o$ ) is potential-dependent, with higher activity of  $\text{IP}_3\text{Rs}$  observed at positive potential values (+40 mV  $P_o = 0.043$ , +60 mV  $P_o = 0.125$ ), while at negative values their activity decreases (-40 mV  $P_o = 0.025$ , -60 mV  $P_o = 0.005$ ). The probability of an open state of investigated receptors increases with increasing  $\text{IP}_3$  concentration and peaks at a concentration of 10  $\mu\text{M}$   $\text{IP}_3$  in the solution ( $N_{Po} = 0.292$ ). In the following series of experiments, we investigate the effect of  $\text{Ca}^{2+}$  ions in different concentrations on  $\text{IP}_3\text{Rs}$  activity. In particular, we were able to detect two subtypes of  $\text{IP}_3\text{Rs}$ , one of which is inhibited by high concentrations of  $\text{Ca}^{2+}$ , which corresponds to the classical pattern of bell-shaped activity dependent on  $\text{Ca}^{2+}$  concentration. This is also confirmed by literature, according to which high  $\text{Ca}^{2+}$  concentrations inactivate purified cardiac  $\text{IP}_3\text{Rs}$ . The other type of  $\text{IP}_3\text{Rs}$  has a significantly right-shifted activity dependence, their inhibition starts at 10  $\mu\text{M}$   $\text{Ca}^{2+}$ , but a few single-channel openings remain at 1 mM of  $\text{Ca}^{2+}$  in the solution. The properties of  $\text{IP}_3\text{Rs}$  in the nuclear membrane of cardiomyocytes differ sharply from both neuronal  $\text{IP}_3\text{Rs}$  type I receptors and heterologously expressed  $\text{IP}_3\text{Rs}$  type II. This may be explained by the influence of post-translational modifications and the molecular environment. Such heterogeneity contributes significantly to temporal and spatial propagation of the intracellular calcium signal in the nucleus. The results demonstrate two subtypes of  $\text{IP}_3$  receptors in the nuclear membrane of cardiomyocytes

that differ in sensitivity to IP<sub>3</sub>, Ca<sup>2+</sup> and LCC-channels, which are inhibited by agonists and inhibitors of n-cholinoreceptors with different effectiveness.

**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. Котлярова Анна Малгожата Борисівна

2. Kotlyarova Anna Borysivna

**Кваліфікація:** к. б. н., 03.00.13

**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. Манько Володимир Васильович

2. Manko Volodymyr V

**Кваліфікація:** д. б. н., 03.00.13

**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. Жолос Олександр Вікторович

2. Zholos Oleksandr 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. Шатурський Олег Ярославович

2. Shaturskiyy Oleg

**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

**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.