

РІШЕННЯ
спеціалізованої вченої ради
про присудження ступеня доктора філософії

Разова спеціалізована вчена рада Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, м. Київ (ID 6322) прийняла рішення про присудження ступеня доктора філософії галузі знань 09 – «Біологія» за спеціальністю 091 – «Біологія», на підставі прилюдного захисту дисертації «Характеристика механочутливих іонних каналів в гладеньком'язових клітинах детрузора сечового міхура щура», 12 вересня 2024 р.

Єльяшов Семен Ігорович, народився 2 червня 1997 року в м. Кропивницький. В 2020 р. закінчив Державну наукову установу «Київський академічний університет» за спеціальністю «Прикладна фізика та наноматеріали», одержавши диплом магістра з відзнакою та здобувши кваліфікацію Біофізик.

В листопаді 2020 р. вступив на денну форму навчання до аспірантури Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України за спеціальністю 091 Біологія.

Освітньо-наукову програму підготовки здобувачів третього (освітньо-наукового) рівня вищої освіти за спеціальністю 091 «Біологія» з галузі знань 09 «Біологія» виконав в повному обсязі.

Дисертацію виконано у відділі нервово-м'язової фізіології Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України.

Науковий керівник – Шуба Ярослав Михайлович, академік НАН України, доктор біологічних наук, професор, завідувачий відділом

Основні результати та висновки дисертаційної роботи викладені у 4х статтях, із них 3 – опубліковані у наукових фахових виданнях України, одна – у закордонному науковому виданні, що належить до 1го квартиля (Q1), а також у 6 тезах доповідей науково-практичних конференцій.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ:

Статті опубліковані у закордонних наукових виданнях:

1. Philippov IB, Sotkis GV, Danshyna AO, Yelyashov SI, Sharopov BR, Shuba YM. Impairment of urinary bladder mechanical properties in rat model of type 2 diabetes. *Neurourol. Urodyn.* 2022;41(8):1670–8. doi: 10.1016/j.bbadv.2022.100069. (Особистий внесок здобувача – участь у формуванні ідеї дослідження, цистометричні вимірювання, 30 % від проведеної роботи)

Статті опубліковані у фахових виданнях України:

2. Єльяшов СІ, Шаропов БР, Шуба ЯМ. Роль K^+ -провідного каналу TREK-1 у механочутливості гладеньком'язових клітин детрузора сечового міхура щура. Фізіол. журн. 2024;70(2):43–50. <https://doi.org/10.15407/fz70.02.035>. (Особистий внесок здобувача – формування тези, підготовка та проведення експериментів, обробка результатів та написання, 95 % від проведеної роботи)

3. S.I. Yeliashov, B.R. Sharopov, Y.M. Shuba. Yodal-associated inhibition of rest K^+ currents may depend on Piezo1-derived Ca^{2+} -release in rat detrusor smooth muscle cells. Fiziol. Zh. 2024; 70(3):3–9. <https://doi.org/10.15407/fz70.03.003>. (Особистий внесок здобувача – формування тези, підготовка та проведення експериментів, обробка результатів та написання, 95 % від проведеної роботи)

4. Єльяшов С, Римар В. Експресія генів механочутливих рецепторів в детрузорі сечового міхура щура. Вісник КНУ ім. Тараса Шевченка, 2024, Т. 95, №4. С. 20-24. DOI: 10.17721/1728.2748.2023.95.20-23. (Особистий внесок здобувача – формування тези, підготовка та проведення експериментів, обробка результатів та написання, 90 % від проведеної роботи)

Матеріали та тези доповідей конференцій:

1. Єльяшов СІ. Механочутливість гладеньких міоцитів детрузора щура. VII з'їзд УБФТ, 29-31 жовтня, 2018. Київ.

2. Yeliashov SI, Philipov IB, Sharopov BR, Shuba YM. Intrinsic mechanical sensitivity of detrusor smooth muscle: trek1-like and piezo1/trpv4-like responses to shear stress and tension VIII congress UBPS, 12-15 November, 2019, Kyiv.

3. Єльяшов СІ, Шаропов БР, Даньшина АО, Шуба ЯМ. Механічна чутливість гладеньких міоцитів детрузора опосередкована функціонуванням Piezo1/TREK-1 але не TRPV4 каналів. II науково-практична конференція з міжнародною участю “Фундаментальні та клінічні аспекти фармакології”. 22 листопада 2022.

4 Yeliashov S, Sharopov B, Danshina A, Shuba Y. “Mechanosensitivity of urinary bladder smooth muscles: the role of TREK-1/TRPV4/Piezo1 channels”. FENS. 9-13 July 2022. Paris, France. S04-186. Available from: <https://fensforum.org/wp-content/uploads/2023/01/FENS2022.pdf>

5. Єльяшов СІ, Шаропов БР, Даньшина АО, Шуба ЯМ. Специфічна активація механочутливого каналу Piezo1 викликає інгібування глібенкламід-чутливих K^+ струмів в гладеньких міоцитах детрузора щурів. Всеукраїнська конференція з нейронаук 25-27 липня 2022 р. Фізіол. журн., 2022, Т. 68, № 3, додаток.

6. Єльяшов СІ, Шаропов БР, Шуба ЯМ. Ca²⁺-опосередковане пригнічення АТФ-залежних K⁺-струмів гладком'язових клітин сечового міхура щурів активатором механочутливого Piezo1-каналу Yoda1. ІХ з'їзд УБФТ, 30.10-02.11 2023. Київ. С.96-98.

У дискусії взяли участь члени разової спеціалізованої вченої ради та присутні на засіданні:

Струтинський Руслан Борисович, рецензент, доктор біологічних наук, доцент, провідний науковий співробітник відділу загальної та молекулярної патофізіології Інституту фізіології імені О.О.Богомольця НАН України, м Київ, рецензія позитивна, з зауваженням:

1. В методах не потрібно вказувати, що тваринам проводили декапітацію, чи яким чином їх умутили. Потрібно просто вказати, що тварину вивели з експерименту на такому-то етапі.

Питання до автора дисертаційної роботи:

1. Чому в тензометричних експериментах на м'язових смужках для задання базального робочого напруження смужки використовували навантаження в 3 мН?

2. Чому результати ПЛР та імуноцитохімія вказують на присутність TRPV4 у детрузорі, тоді як використання селективного активатора TRPV4 – GSK1016790a в експериментах з вимірюванням трансмембранних струмів не дало результатів?

3. Чому для визначення достовірності змін щільності контрольного та індукованого струму використовували різні статистичні методи, в одному випадку Т-тест Велча (зокрема, рис. 3.5), а в іншому випадку тест Вілсона (рис. 3.8)

4. На вашу думку, яким сигнальним шляхом активація Piezo1 може призводити до інгібування АТФ-чутливих калієвих каналів, і яку роль в цьому може відігравати Piezo1-індуковане підвищення [Ca²⁺]_i?

Чернінський Андрій Олександрович, рецензент, кандидат біологічних наук, старший дослідник, старший науковий співробітник відділу фізико-хімічної біології клітинних мембран Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, рецензія позитивна із зауваженнями:

1. Текст дисертації містить нечисленні граматичні помилки та одруки.

2. Автор подекуди використовує англійськи (наприклад, “бок”-діаграма), замість латинських назв (lamina propria) можна було б використати українські відповідники (базальна пластинка).

Питання до автора дисертаційної роботи:

1. У описі статистичних методів зазначено “Для вибірок, в яких Т-тест Велча не давав очікуваних результатів застосовували парний Т-тест Вілксона...”. Підбирання методу аналізу під очікуваний результат не є правильним способом обробки даних, ймовірно автор невдало сформулював критерій обрання статистичного методу, чи може дисертант пояснити процедуру обрання тесту.

Жолос Олександр Вікторович, опонент. доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри біофізики та нейробіології Навчально-наукового центру “Інститут Біології та Медицини” Київського національного Університету імені Тараса Шевченка м. Київ, відгук позитивний із зауваженнями:

1. В роботі трапляються неточності термінологічного характеру, наприклад: «процедура фіксації струму» або «мікропіпетка для фіксації струму», тоді як реєстрація струмів базується на фіксації напруги; «внесення фармацевтичних засобів», тоді як фармакологічних було б більш правильним терміном.

Питання до автора дисертаційної роботи:

1. Чи проводились розрахунки концентрації вільного Ca^{2+} у піпеточних розчинах, які містили суміш 8 мМ EGTA/5 мМ $CaCl_2$ або 5 мМ EGTA/1 мМ $CaCl_2$ і наскільки ці концентрації відповідали внутрішньоклітинній концентрації іонів Ca^{2+} за фізіологічних умов у стані спокою?

2. З цього витікає більш загальне питання – чому потрібно було фіксувати цитоплазматичну концентрацію Ca^{2+} , якщо відомо, що активація механочутливих іонних каналів впливає на мембранний потенціал клітин і рівень внутрішньоклітинного кальцію, і отже є інтегральним компонентом механочутливих скоротливих реакцій гладеньких м'язів? Наприклад, без фіксації внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} було б можливим реєструвати спонтанні калієві вихідні струми (відомі як STOCs), що виникають при виникненні Ca^{2+} «спалахів» (Ca^{2+} sparks), які у свою чергу активують близько розташовані кластери ВКСа каналів, і таким чином отримати додаткову інформацію про вплив механічної стимуляції ГМК на ці процеси.

3. У продовження цього питання, дійсно, у роботі згадується активація ВКСа каналів навіть при базальному рівні цитозольного кальцію (Рис. 3.4 і с. 78), а експерименти з прямою реєстрацією змін концентрацій цитозольного кальцію в інтактних клітинах з використанням флюоресцентного Ca^{2+} -чутливого зонду Fluo 3-AM продемонстрували значне зростання

концентрації цитозольного Ca^{2+} під час натиску на клітину (Рис. 3.19). Отже, на основі цих результатів можливо варто постулювати ще один тип іонного каналу, а саме ВКСа канал, як такий, що активується при механічній стимуляції детрузора, хоча і опосередковано Ca^{2+} -залежним чином? Якщо так, то це може бути домінуючим механізмом зважаючи на високу експресію і провідність ВКСа каналів у гладеньком'язових клітинах різних типів, у тому числі і у детрузорі.

4. Зараз значна увага приділяється питанням локальної кальцієвої сигналізації, тому виникає наступне питання – чи спостерігались Ca^{2+} «спалахи» в експериментах, результати яких проілюстровано на Рис. 3.19?

5. Чи немає певного протиріччя між відсутністю GSK1016790A-активованих струмів у ГМК (Рис. 3.22) і наявністю кластерів TRPV4 каналів у мембрані цих клітин відповідно до імуноцитохімічних досліджень (Рис. 3.3В)? Аналогічне питання виникає і стосовно Piezo1, якщо порівнювати Рис. 3.26, Рис. 3.28 і Рис. 3.3А.

6. Розділ 3.2 «Механочутливість гладеньком'язових клітин детрузора»: обговорювана аналогія із законом Франка-Старлінга – є цікавою, ілюстративною і свідчить про широку ерудицію автора роботи, але потрібно зауважити, що клітинні механізми, що лежать в основі збільшення скоротливості м'язових клітин при розтягненні тканини у поперечносмугастому серцевому м'язі, де при розтягненні формується більше актин-міозинових поперечних містків, виникає кальцієва сенситизація міофібріл тощо, є суттєво відмінними від гладеньких м'язів.

7. Результати, що наведені у розділі 3.6 «Yoda1-залежне інгібування АТР-чутливих калієвих каналів», передбачають внутрішньоклітинну локалізацію Piezo1, наприклад у мембрані саркоплазматичного ретикулуму, що цілком логічно і ймовірно з огляду на наведені аналогії з іншими типами клітин, але тоді виникає дискусійне питання – яким чином внутрішньоклітинний Piezo1 білок може бути активованим зовнішнім механічним стимулом, таким як натиск на мембрану скляним зондом (Рис. 3.19)?

Соловійов Анатолій Іванович, опонент, доктор медичних наук, професор, завідувач відділу фармакології клітинних сигнальних систем та експериментальної терапії, ДП «Інститут фармакології та токсикології» НАМНУ, відгук позитивний. Запитання до автора дисертаційної роботи:

1. Чому для дослідження механочутливості ізольованих клітин використали потік рідини, адже сечовий міхур природно піддається механічним впливам типу розтягнення та тиску? Ви пишете "була сконструйована

установка для генерації вузьких потужних струменів зовнішнього розчину, що створюватиме гідродинамічну стимуляцію, що в літературі називають “shear stress”. Напруга зсуву визначається як тип напруги, що діє в одній площині з заданим поперечним перерізом матеріалу. Воно виникає внаслідок зсувних сил. Ці сили можуть викликати деформацію або ковзання шарів матеріалу відносно один одного, а напруга зсуву кількісно визначає, наскільки легко відбувається ця деформація. Наскільки точно Ваш пристрій відповідає цьому визначенню.

2. Як Ви визначали величину зсуву напруги? У відомій формулі воно залежить не тільки від об'єму рідини, але і від її в'язкості, ширини шару рідини і має розмірність $\text{дин}/\text{см}^2$.

3. Як результати дисертації з закриттям TRPV4 у м'язовому шарі сечового міхура узгоджуються з літературою, що демонструє залежність спонтанних скорочень з роботою саме цього каналу? Чому за допомогою молекулярних методів досліджували експресію чотирьох механочутливих каналів (Piezo1, Piezo2, TRPV4 та TREK-1), однак на клітинному рівні вивчали можливу роботу лише 3-х (без Piezo2)?

4. Дані про глікокалікс, наприклад, ендотеліальних клітин, накопичені до теперішнього часу, дозволяють зробити висновок, що ендотеліальні клітини не можна розглядати ізольовано без урахування їх глікокаліксу. Що в цьому зв'язку можна сказати про роль глікокаліксу уротелію?

5. Сечовий міхур має здатність виразно довго збільшувати об'єм без приросту тиску. Інакше ми би бігали до туалету кожних 15 хвилин. Раніше це називалося пластичним тонусом. Чи можна вважати, що саме уротелій є головною ланкою пластичного тонусу?

6. Чому для пояснення феномена міогенної ауторегуляції Ви наводите як приклад закон Франка-Старлінга? Для гладких це явище було відкрито набагато раніше (феномен Бейліса).

7. Аплікація L-метіоніну (інгібітора TREK-1), блокувала 90% механоактивованого вихідного струму. Це означає що TREK-1 виконує провідну роль у механочутливості ГМК детрузора. Людина з їжею отримує в день близько 4 г метіоніну, Чи означає це, що фонові активність TREK каналу принічена в нормі? На той же час, зниження активності TREK-1 асоціюється з гіперактивністю сечового міхура.

8. Гіперактивність сечового міхура у жінок у клімактеричному періоді часто легко купірується після корекції гормонального фону. Чи означає це, що TREK перебувають під гормональним контролем?

Лук'янець Олена Олександрівна, головуюча ради, доктор біологічних наук, професор, завідувач відділу Біофізики іонних каналів Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, оцінка позитивна без зауважень.

Результати відкритого голосування за присудження Єльяшову Семену Ігоровичу ступеня доктора філософії в галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія:

«За» - 5
«Проти» - 0
«Утрималось» - 0

**РАЗОВА СПЕЦІАЛІЗОВАНА ВЧЕНА РАДА ІД 6322
ІНСТИТУТУ ФІЗІОЛОГІЇ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ НАН
УКРАЇНИ УХВАЛИЛА:**

1. Дисертація Єльяшова Семена Ігоровича на тему «Характеристика механочутливих іонних каналів в гладеньком'язових клітинах детрузора сечового міхура щура» за спеціальністю 091 - «Біологія» галузі знань 09 «Біологія», є завершеним самостійним науковим дослідженням і відповідає вимогам «Порядку підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії та доктора наук у закладах вищої освіти (наукових установах)» затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 23 березня 2016 р. № 261; «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44.

2. Присудити Єльяшову Семену Ігоровичу науковий ступінь доктора філософії у галузі знань 09 – «Біологія», спеціальність 091 – «Біологія».

3. Рішення разової спеціалізованої вченої ради затвердити і передати до Випускової кафедри Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України.

4. Підготувати Наказ про видачу Єльяшову Семену Ігоровичу диплома доктора філософії та додатка до нього європейського зразка.

На підставі відкритого голосування та прийнятого рішення разова спеціалізована вчена рада Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України присуджує Єльяшову Семену Ігоровичу науковий ступінь доктора філософії з галузі знань 09 – «Біологія», спеціальність 091 – «Біологія».

Голова спеціалізованої вченої ради,
доктор біологічних наук, професор,
заступник директора з наукової роботи
Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця
НАН України


Олена ЛУК'ЯНЕЦЬ

ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ НАН УКРАЇНИ
Підпис: 
Заступник: 
Ст. № 7