

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук, доцента, ведущего научного сотрудника, руководителя группы биохимических и клеточных исследований Отдела кинетики химических и биологических процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федеральный исследовательский центр проблем химической физики и медицинской химии Российской академии наук Акентьевой Натальи Павловны на диссертацию Сеидкулиевой Адамианы Аманмамедовны на тему: «Влияние пероксида водорода и S-нитрозоглутатиона на функционирование прегнан X рецептора и конститутивного андростанового рецептора» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.4. Биохимия

Актуальность выбранной темы

Окислительный и нитрозативный стресс приводят к повреждению клеток. Прегнан X рецептор (PXR) и конститутивный андростановый рецептор (CAR) являются членами семейства ядерных рецепторов, которые могут защищать клетки организма от ксенобиотиков, влиять на пролиферацию и дифференцировку клеток, поддержание гомеостаза и метаболические процессы. В настоящее время имеются многочисленные исследования, в которых была установлена важная роль PXR и CAR в защите клеток от воздействия ксенобиотиков и в регуляции метаболических процессов. Однако, несмотря на многочисленные исследования в этой области, только в единичных работах оценивалось влияние окислительного и нитрозативного стресса на функционирование данных рецепторов.

В этой связи диссертационная работа Сеидкулиевой А.А., посвященная изучению влияния пероксида водорода и оксида азота на рецепторы PXR и CAR, представляется чрезвычайно важной и актуальной.

Структура работы

Диссертационная работа Сеидкулиевой А. А. изложена на 142 страницах машинописного текста, содержит 51 рисунок и 2 таблицы. Работа состоит из следующих глав: введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов исследования, обсуждения полученных

результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспективы дальнейшей разработки темы, списка сокращения и списка цитируемой литературы. Список литературы содержит 272 источника.

В главе «Обзор литературы» (стр.14) автор достаточно подробно описывает структуру прегнан Х рецептора и конститутивного андростанового рецептора, их локализацию в клетке и роль в регуляции клеточных процессов. В обзоре литературы представлена исчерпывающая информация о влиянии PXR на устойчивость опухолевых клеток к химиотерапии. Автор описывает влияние PXR на рост опухолевых клеток, инвазию, метастазирование, на активацию экспрессии гена фактора роста фибробластов, на уровень оксида азота (NO), на метаболизм глюкозы и липидов. Автор подробно характеризует регуляцию PXR лигандами, другими ядерными рецепторами, кофакторами, а также эпигенетическими и посттрансляционными модификациями. Автор проводит сравнительный анализ лигандов прегнан Х рецептора (индукторов и ингибиторов), анализирует их фармакологические свойства. В литературном обзоре аналогичным образом, подробно описаны механизмы регуляции конститутивного андростанового рецептора, приводится информация о его лигандах. Большой раздел в обзоре литературы посвящен описанию сигнальной роли пероксида водорода и оксида азота (II). Литературный обзор написан подробно с привлечением большого количества современных источников. Содержание обзора показывает, что автор хорошо знаком с последними достижениями, результатами и тенденциями в области исследования, которой посвящена диссертационная работа.

В главе «Материалы и методы» подробно описаны использованные автором в работе современные методы биохимии и клеточной биологии, включая культивирование клеточных культур, иммуноцитохимические методы, определение жизнеспособности клеток, вестерн-блот анализ, моделирование окислительного и нитрозативного стресса в клетках, метод флуоресцентной микроскопии. Выбор Сеидукулиевой А.А. перечисленных

выше методов исследования является научно обоснованным и полностью соответствует задачам диссертационной работы.

В главе «Результаты исследования», которая состоит из 10-ти подразделов, автор излагает и анализирует результаты собственных экспериментов. В работе подробно описывается влияние пероксида водорода на биохимические изменения в клетках линии Сасо-2. Изучено цитотоксическое действие H_2O_2 по результатам МТТ-теста. Установлено, что H_2O_2 в концентрациях 5, 10, 50, 100 мкМ и длительности воздействия 24 ч и в концентрациях 50 и 100 мкМ и экспозицией 3 и 72 ч вызывает развитие окислительного стресса, что вызывает снижение жизнеспособности клеток.

Автор подробно описывает эксперименты по влиянию пероксида водорода на относительное количество и внутриклеточную локализацию прегнан Х рецептора и конститутивного андростанового рецептора. Установлено, что при увеличении относительного количества PXR и CAR данные рецепторы преимущественно концентрируются в цитоплазме, а не в ядре, что косвенно свидетельствует об отсутствии их активации. Автор изучил механизмы влияния H_2O_2 на относительное количество PXR и CAR методом воздействия конечного продукта ПОЛ – МДА на данные рецепторы. Автор оценивает роль Nrf2 в индукции прегнан Х рецептора и конститутивного андростанового рецептора под действием пероксида водорода. На основе полученных результатов сделан вывод, что транскрипционный фактор Nrf2 принимает участие в индукции CAR под действием H_2O_2 и не связан с индукцией PXR под действием прооксиданта.

Кроме того, Сеидкулиевой А.А. проведена оценка роли прегнан Х рецептора и конститутивного андростанового рецептора в защите клеток от окислительного стресса. Установлено, что PXR и CAR повышают чувствительность клеток к окислительному стрессу.

Кроме того, Сеидкулиевой А.А. получены данные, свидетельствующие о том, что S-нитрозоглутатион влияет на относительное количество и внутриклеточную локализацию прегнан Х рецептора и конститутивного

андростанового рецептора. В завершении автором представлены результаты исследования роли прегнан Х рецептора и конститутивного андростанового рецептора в защите клеток от нитрозативного стресса.

В рамках данного исследования был проведен сравнительный анализ влияния ингибитора PXR кетоконазола и ингибитора CAR – CINPA1 на жизнеспособность клеток. Автором получены данные, свидетельствующие о том, что ингибирование PXR и CAR оказывает защитное действие и повышает выживаемость клеток при развитии окислительного и нитрозативного стресса. Представленные результаты работы изложены профессионально, достоверность полученных данных не вызывает сомнений, результаты подвергнуты детальному анализу и обсуждению, выводы обоснованы и полностью базируются на полученных данных.

В результате выполненной работы Сеидкулиевой А.А. были получены новые и приоритетные данные. Автором впервые было показано, что повышение относительного количества прегнан Х рецептора опосредовано продуктом перекисного окисления липидов малоновым диальдегидом, а индукция конститутивного андростанового рецептора при воздействии пероксида водорода связана с ядерным фактором эритроидного происхождения-2. Впервые показано, что повышение уровня прегнан Х рецептора при сроке инкубации 24 ч с S-нитрозоглутатионом связано с продуктом нитрозативного стресса – битиразином.

Автором впервые выявлена роль NO-цГМФ сигнального пути и Nrf2 в регуляции PXR и CAR, которая может являться фармакологической мишенью для модулирования данных рецепторов и генов, экспрессия которых контролируется ими. Автором впервые показано *in vitro* влияние H₂O₂ и донора NO на PXR и CAR, что важно для изучения их функционирования при заболеваниях, сопровождающихся развитием окислительного и нитрозативного стресса.

Научная и практическая значимость работы

Полученные результаты являются научно значимыми и имеют фундаментальное значение для понимания механизмов разнонаправленного влияния H_2O_2 и S-нитрозоглутатиона (GSNO) на относительное количество PXR и CAR. Работа имеет также практическое значение, так как Сеидкулиевой А.А. выявлены новые механизмы регуляции рецепторов PXR и CAR, что важно для повышения эффективности терапии онкологических заболеваний.

Следует особо отметить, что основные результаты диссертационной работы успешно внедрены и используются в учебном процессе при обучении студентов, ординаторов на кафедрах биологической химии и фармакологии, а также в работе центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

Достоверность полученных Сеидкулиевой А.А., результатов не вызывает сомнений, ввиду правильного построения дизайна эксперимента, наличия необходимых контролей, использования автором современных методов исследования, а также применения адекватных методов статистического анализа. Принципиальные результаты были многократно воспроизведены в ходе выполнения работы, а выявленные автором эффекты подтверждены методами статистического анализа.

В работе проведено достаточно обстоятельное обсуждение результатов, с широким привлечением данных других исследований. Сделанные выводы научно обоснованы и логично вытекают из представленных в работе данных.

Замечания

В оформлении диссертации допущены опечатки, имеются стилистические неточности. Например, на стр. 14 написано «Основная изоформа PXR человека (hPXR) состоит из 434 аминокислот и имеет массу 50 кДа». Надо писать «молекулярную массу».

Кроме того, к диссертанту имеются вопросы:

1. Почему использовалась 15 % сыворотка, а не 10 % сыворотка в ростовой среде (стр. 40).

2. Зачем клетки растили так долго, в течение 21 суток? Считали ли вы количество живых и мертвых клеток (с трипановым синим) через 21 сутки?

3. Какой предполагаемый механизм действия пероксида водорода на рецепторы PXR и CAR?

Вместе с тем, указанные замечания не имеют принципиального значения, они несколько не умаляют значимость диссертационного исследования, и не ставят под сомнение достоверность полученных результатов и обоснованность сделанных на их основании выводов.

Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации.

По материалам диссертационной работы опубликовано 17 печатных работ: 5 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России и входящих в базы Web of Science и Scopus; 12 тезисов докладов в материалах Российских и международных конференций; получен 1 патент на изобретение. Материалы диссертационной работы были многократно представлены на Всероссийских и международных научных конференциях.

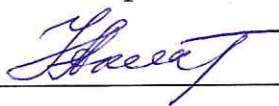
Заключение

Диссертационная работа Сеидкулиевой Адамианы Аманмамедовны «Влияние пероксида водорода и S-нитрозоглутатиона на функционирование прегнан X рецептора и конститутивного андростанового рецептора», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.4. «Биохимия», является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи: исследование биохимических механизмов влияния пероксида водорода и S-нитрозоглутатиона на функционирование прегнан X рецептора и конститутивного андростанового рецептора, имеющей важное значение для

биохимии, что соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842, а ее автор, Сеидкулиева Адамиана Аманмамедовна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук,
ведущий научный сотрудник, руководитель группы биохимических и клеточных исследований Отдела кинетики химических и биологических процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федеральный исследовательский центр проблем химической физики и медицинской химии Российской академии наук
Акентьева Наталья Павловна


«19» января 2024 г.

Контактные данные:

Тел.: +7(496)522 1143, e-mail: na_aken@icp.ac.ru

Адрес места работы:

ФГБУН ФИЦ ПХФ и МХ РАН, 142432,
Московская область, г. Черноголовка,
проспект академика Семенова, д. 1
Тел.: +7(495) 993 5707; e-mail: office@icp.ac.ru

Подпись Акентьевой Натальи Павловны удостоверяю:

Ученый секретарь ФГБУН
ФИЦ ПХФ и МХ РАН



д.х.н. Психа Б.Л



«19» января 2024 г.