

УТВЕРЖДАЮ

Проректор
по научно-инновационной деятельности
ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко
Минздрава России, д.м.н., профессор

«19» мар 2025 г.

А.В. Будневский

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации
о научно-практической значимости диссертационной работы
Сучковой Ольги Николаевны
на тему «Механизмы регуляции полипептида, транспортирующего органические анионы, 1B1 под действием S-нитрозоглутатиона в эксперименте *in vitro*»
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук
по специальности 1.5.4. Биохимия

Актуальность работы

Диссертационная работа Сучковой О.Н. представляет собой фундаментальное биохимическое исследование, в котором детально изучено влияние S-нитрозоглутатиона (SNOG) – ключевого эндогенного донора оксида азота (NO) – на функциональную активность и регуляцию полипептида, транспортирующего органические анионы, 1B1 (OATP1B1).

Актуальность представленной работы определяется несколькими ключевыми аспектами. Во-первых, OATP1B1 играет ведущую роль в транспорте эндогенных веществ и многих клинически значимых препаратов, включая статины, сартаны и противоопухолевые средства. Во-вторых, SNOG как эндогенный донор NO участвует в регуляции множества клеточных процессов, однако его влияние на инфлюксные белки-транспортеры является недостаточно изученным. В-третьих, полученные результаты имеют важное значение для понимания лекарственных взаимодействий и разработки новых подходов к терапии. Таким образом, актуальность проведенного исследования не вызывает сомнения.

Научная новизна исследования и полученных результатов и выводов, сформулированных в диссертации

Диссертация отличается существенной научной новизной, которая заключается в том, что впервые проведено комплексное исследование влияния SNOG на экспрессию, количество и функциональную активность OATP1B1.

Автором установлено, что SNOG не является прямым субстратом этого транспортера, однако опосредованно влияет на его активность через образование оксида азота (II).

В свою очередь второй метаболит SNOG – глутатион, как показано в работе, может транспортироваться с помощью OATP1B1. Это важное наблюдение, поскольку ранее роль OATP1B1 в транспорте глутатиона не изучалась.

Особого внимания заслуживает бимодальное действие S-нитрозоглутатиона. Продemonстрировано, что SNOG в концентрациях 1–50 мкМ повышает экспрессию гена *SLCO1B1* и уровень белка OATP1B1, что сопровождается увеличением транспорта его субстрата – аторвастатина. При этом ключевыми механизмами такой регуляции являются активация NO-pГЦ-сигнального пути, транскрипционного фактора Nrf2 и рецептора LXRα.

При высоких концентрациях (100 мкМ) SNOG вызывает нитрозативный стресс, что приводит к снижению жизнеспособности клеток и нарушению функционирования OATP1B1.

Выводы логично вытекают из полученных результатов.

Достоинством диссертационной работы является разработанный и запатентованный способ повышения количества полипептида, транспортирующего органические анионы, 1B1 (OATP1B1). Данный метод особенно актуален при гепатоцеллюлярной карциноме, так как при этой патологии отмечается снижение активности OATP1B1, а следовательно, будет изменен транспорт лекарственных препаратов, являющихся субстратами белка-переносчика.

Полученные автором новые данные о функционировании и механизмах регуляции OATP1B1 при воздействии донора оксида азота S-нитрозоглутатиона

отражают научную новизну полученных результатов и выводов диссертационной работы.

Степень обоснованности и достоверности результатов, научных положений, выводов и рекомендаций

Результаты исследования отличаются высокой степенью достоверности, что обеспечивается комплексным использованием современных методов. В работе применены высокоточные аналитические методы (ВЭЖХ-МС/МС), молекулярно-биологические подходы (вестерн-блоттинг, ПЦР-RT), а также флуоресцентные методы для оценки редокс-статуса клеток. Статистическая обработка данных выполнена корректно с использованием ANOVA и post-hoc тестов. Достоверность выводов подтверждается применением специфических ингибиторов (ODQ, AEM1, TFCA) и многократным повторением экспериментов.

Научные положения, выводы и практические рекомендации сопоставимы с результатами исследования и соответствуют поставленным целям и задачам работы.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Результаты исследования имеют важное значение для фундаментальной и прикладной науки. В области биохимии они расширяют знания о NO-зависимой регуляции транспортных белков и редокс-зависимых механизмах клеточной сигнализации. Для фармакологии работа предоставляет новые данные для прогнозирования лекарственных взаимодействий и создания регуляторов OATP1B1. В клиническом аспекте полученные результаты могут способствовать разработке более эффективных схем терапии с учетом индивидуальных особенностей пациентов.

Таким образом, представленная диссертационная работа имеет высокую научно-практическую значимость.

Содержание и характеристика диссертационной работы

Структура диссертационной работы Сучковой О.Н. имеет традиционный характер. Диссертационная работа состоит из следующих разделов: введение, глава 1 – обзор литературы, глава 2 – материалы и методы, глава 3 – результаты исследования, обсуждение результатов, заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений, список литературы. Диссертация изложена на 138 страницах, иллюстрирована 56 рисунками и 9 таблицами. Список литературы представлен 212 источниками.

Первая глава «Обзор литературы» представляет собой фундаментальный аналитический обзор современных научных представлений о системе транспорта органических анионов. Особое внимание уделено белкам-транспортерам ABC и SLC-семейств, детально рассмотрена структурно-функциональная организация белков-транспортеров, с акцентом на их значение. Особенно тщательно проанализированы молекулярная структура OATP1B1, субстратная специфичность (транспорт статинов, сартанов, эндогенных соединений) и локализация в гепатоцитах и других тканях. Представлены систематизированные современные данные о транскрипционной регуляции (роль HNF1 α , HNF4 α , LXR α , FXR) OATP1B1, посттрансляционных модификациях (гликозилирование, фосфорилирование) и эпигенетических механизмах (влияние микроРНК), что отражено в авторском рисунке. Представлен исчерпывающий анализ биохимии S-нитрозоглутатиона, включающий химические свойства и метаболизм SNOG, роль в NO-зависимой сигнализации, участие в редокс-регуляции клеточных процессов. Особую ценность представляет интеграция данных о транспортных системах и NO-зависимых процессах, что создает теоретическую основу для собственных исследований.

Методический раздел (Глава 2. «Материалы и методы») отличается исключительной детализацией и воспроизводимостью. Отдельно описаны клеточные линии: HepG2 как модели гепатоцитов, HEK293-SLCO1B1 для изучения специфической транспортной активности, приведены условия культивирования (состав сред, условия инкубации). В работе использован

комплекс современных методов: вестерн-блоттинг с детальным протоколом электрофореза, переноса и других стадий, количественная ПЦР с указанием праймеров. Проведена оценка нитрозативного стресса по уровню 3-нитротирозина и битирозина, анализ редокс-статуса по концентрации SH-групп, относительного количества Nrf2. Для количественного определения аторвастатина использован метод ВЭЖХ-МС/МС. Также в работе применялась флуоресцентная микроскопия (DAF-FM, MitoTracker). Детально описан статистический анализ, критерии соответствуют задачам анализа результатов.

Глава 3 «Результаты исследования» логически структурирована и содержит несколько тематических разделов научной работы. Фундаментальные биохимические эффекты SNOG содержат данные о кинетике накопления NO в зависимости от концентрации и времени, динамике изменения редокс-статуса (SH-группы, GSH/GSSG), приведена оценка нитрозативного стресса (3-нитротирозин и битирозин). Представлены результаты о молекулярных механизмах регуляции: дозозависимая активация Nrf2, роль NO-pГЦ-цГМФ пути, участие LXR α в долговременной регуляции.

Отдельным блоком показаны функциональные последствия в виде изменения экспрессии *SLCO1B1* (мРНК и белок), динамики транспортной активности (поглощение аторвастатина), цитотоксические эффекты высоких концентраций. Особенно ценно поэтапное раскрытие механизмов от первичных биохимических событий до функциональных последствий.

В Главе 4 «Обсуждение результатов» продемонстрирована глубина интерпретации. В обсуждении представлена интеграция с современными концепциями, сопоставление с данными о NO-зависимой регуляции транспортеров и обсуждение в контексте редокс-биологии. Автор диссертации делает критический анализ и затрагивает открытые вопросы по посттрансляционным модификациям, ограничениям исследования, перспективам изучения *in vivo* моделей. Выводы исходят из цели исследования и соответствуют задачам диссертационной работы.

Таким образом, диссертация представляет собой целостное исследование,

где теоретическая часть создает прочную концептуальную основу, методический раздел обеспечивает воспроизводимость, результаты представлены систематично и доказательно, обсуждение демонстрирует глубину понимания проблемы.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Автореферат полностью соответствует содержанию работы и оформлен согласно принятым требованиям ВАК при Минобрнауки России.

Публикации результатов исследования

По материалам диссертационного исследования опубликовано 17 печатных работ, в том числе 2 статьи в журналах перечня ВАК при Минобрнауки России, 3 публикации в журналах, входящих в цитатно-аналитическую базу данных Scopus, получен 1 патент РФ на изобретение, внедрено 1 рационализаторское предложение.

Замечания и вопросы к диссертационной работе

Принципиальных замечаний к изложенным в диссертации результатам, их интерпретации и сформулированным выводам нет. Однако, при прочтении работы возникли некоторые вопросы, сформулированные в плане дискуссии и не затрагивающие сути работы.

1. Поясните, пожалуйста, какие еще возможны способы ингибирования изучаемых сигнальных путей? Отличаются ли выбранные вами селективностью?

2. Можно ли экстраполировать доказанный механизм регуляторного действия S-нитрозоглутатиона по отношению к OATP1B1 на другие доноры NO?

Заключение

Диссертационная работа Сучковой Ольги Николаевны «Механизмы регуляции полипептида, транспортирующего органические анионы, 1B1 под действием S-нитрозоглутатиона в эксперименте *in vitro*» является законченной научно-квалификационной работой и содержит решение актуальной научной

задачи – выявление биохимических регуляторных путей функционирования полипептида, транспортирующего органические анионы, 1В1 под действием S-нитрозоглутатиона. Диссертация по методическому уровню исследований, научной новизне и практической значимости полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор, Сучкова Ольга Николаевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании кафедры клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России протокол № 9 от 19 мая 2025 г.

Заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики
ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России
доктор медицинских наук, доцент

Котова Юлия Александровна

Подпись д.м.н., доцента Ю.А. Котовой заверяю:
Начальник управления кадров
ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России



Скорынин Сергей Иванович

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России)

Адрес: 394036, г. Воронеж, ул. Студенческая, д. 10
Тел.: 8(473)259-89-90
e-mail: mail.vrngmu.ru