

ОТЗЫВ

официального оппонента, заведующего кафедрой биохимии имени Р.И.

Лифшица, ведущего научного сотрудника центральной научно-исследовательской лаборатории Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации доктора медицинских наук, доцента Синицкого Антона Ивановича на диссертационную работу Сучковой Ольги Николаевны «Механизмы регуляции полипептида, транспортирующего органические анионы, 1B1 под действием S-нитрозоглутатиона в эксперименте *in vitro*», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.4. Биохимия

Актуальность исследования

Диссертационная работа Сучковой О.Н. посвящена изучению механизмов регуляции транспортера органических анионов OATP1B1 (Organic Anion Transporting Polypeptide 1B1) под действием оксида азота (II) и его донора S-нитрозоглутатиона (SNOG). Актуальность темы обусловлена биохимической и физиологической ролью OATP1B1.

OATP1B1, локализованный в базолатеральной мембране гепатоцитов, играет ключевую роль в печеночном клиренсе эндогенных соединений (желчных кислот, гормонов) и экзогенных субстратов (статинов, противоопухолевых препаратов). Снижение экспрессии OATP1B1 при гепатоцеллюлярной карциноме (ГЦК) связано с резистентностью к химиотерапии, что делает изучение биохимических путей его регуляции перспективным для онкологии.

В настоящее время в качестве универсального регулятора клеточных процессов (апоптоз, воспаление, метаболизм ксенобиотиков) рассматривают оксид азота (II). SNOG, как эндогенный донор NO, представляет интерес для моделирования нитрозативного стресса *in vitro*. Однако его влияние на транспортные белки, в частности OATP1B1, ранее не изучалось.

Пробелы в понимании механизмов транспорта SNOG при участии белков-транспортеров в клетки и его влияние на OATP1B1 ограничивает разработку стратегий коррекции лекарственной резистентности.

Таким образом, исследование Сучковой О.Н. направлено на решение значимой научной проблемы, сочетающей фундаментальные и прикладные аспекты биохимии и молекулярной медицины.

Научная новизна и значимость полученных результатов

Работа содержит ряд принципиально новых положений, подтвержденных экспериментальными данными:

1. Установлена роль OATP1B1 в транспорте глутатиона. Впервые доказано, что OATP1B1 опосредует перенос глутатиона через мембрану клеток HEK293-SLCO1B1. Это расширяет понимание физиологических функций транспортера, который ранее рассматривался преимущественно в контексте лекарственного метаболизма. Отсутствие транспорта SNOG через OATP1B1, несмотря на структурное сходство с глутатионом, указывает на доказанную высокую субстратную специфичность белка-транспортера.

2. Доказана регуляция OATP1B1 под действием SNOG. Выявлен дозозависимый эффект SNOG. Так, в низких концентрациях (10-50 мкМ) SNOG увеличивает экспрессию гена *SLCO1B1*, количество и активность OATP1B1 через активацию NO-цГМФ-сигнального пути и транскрипционных факторов Nrf2 и LXR α . В высоких концентрациях (100 мкМ) SNOG индуцирует нитрозативный стресс, снижая функциональную активность транспортера.

3. Установлена последовательность участия сигнальных путей: ведущая роль NO-цГМФ и Nrf2 по сравнению с LXR α . Полученный результат имеет практическое значение, так как позволяет воздействовать на конкретные биохимические мишени.

Анализ структуры диссертационной работы

Диссертация имеет классическую структуру, соответствующую всем действующим требованиям, и включает введение (обоснование актуальности, цели, задачи, новизну), главы (литературный обзор, методы, результаты, обсуждение), заключительные разделы (выводы, рекомендации, перспективы). Объем диссертационной работы составляет 138 страниц машинописного текста и содержит 56 рисунков, 9 таблиц, 212 источников литературы.

Во введении четко сформулирована актуальность, описаны клиническая значимость OATP1B1 в транспорте лекарств (статины, босентан) и проблема резистентности при гепатоцеллюлярной карциноме. Сформулированная цель и задачи логичные, связанные с темой исследования. Научная новизна исследования и положения, выносимые на защиту, соответствуют цели и задачам.

В главе «Обзор литературы» систематизированы современные данные по структуре и функциям OATP1B1, дан подробный анализ сигнальных путей NO, включая NO-цГМФ и Nrf2, а также приведена характеристика SNOG как донора NO. Уделено отдельное внимание методологическим аспектам, а именно клеточной линии HepG2 как объекту исследования *in vitro*. Проведен анализ литературы за период 1999–2024 гг.

В главе «Материалы и методы» дана подробная характеристика клеточным моделям HepG2, HEK293, HEK293-SLCO1B1, приведены

изображения клеток и условия культивирования. Стоит подчеркнуть, что клеточная линия HEK293-SLCO1B1 была получена самостоятельно на базе лаборатории биоинженерии клеток РязГМУ. Для всех реактивов и оборудования указаны производители и необходимые характеристики, что обеспечивает воспроизводимость.

В диссертационной работе комбинированное использование современных биохимических методов (ВЭЖХ-МС/МС для анализа транспорта SNOG, глутатиона и аторвастатина; ПЦР в реальном времени; вестерн-блоттинг) обеспечило высокую достоверность результатов. Эксперименты на трансфицированных клетках HEK293-SLCO1B1 позволили исключить влияние побочных факторов на оценку транспорта. Эти результаты вносят существенный вклад в биохимию мембранных транспортеров и открывают новые направления для исследований в области фармакокинетики и онкологии. В работе проведена комплексная оценка изменений – активность и количество белка, экспрессия гена, детекция уровня оксида азота с помощью флуоресцентных зондов, а также состояние апоптоза и митохондриальной функции. Для анализа полученных результатов использовали тест ANOVA, критерии Тьюки и Даннетта.

В главе «Результаты исследования» данные представлены системно и соответствуют задачам. Изложение материала представлено в виде блоков: влияние SNOG на жизнеспособность клеток и митохондрии; участие OATP1B1 в транспорте SNOG через клеточную мембрану; активация OATP1B1 через NO-цГМФ, Nrf2 и LXR α и регуляция белка-транспортера. Результаты подкреплены статистической обработкой и визуализированы (графики, таблицы, микроскопические изображения, фото бендов).

В главе «Обсуждение» интерпретация результатов представлена в контексте литературных данных. Важно, что автором проведено глубокое сравнение регуляции OATP1B1 с регуляцией других транспортеров, например, Р-гликопротеина. Подробно обсуждены и проанализированы дозозависимые эффекты SNOG. На основании собственных результатов выделены практические рекомендации, а именно, возможность применения результатов в терапии гепатоцеллюлярной карциномы и прогнозирование лекарственных взаимодействий. Особенно ценно, что автором уделено внимание ограничениям работы (например, использование только *in vitro* моделей, некоторые сходства с OATP1B3).

Выводы диссертационной работы соответствуют цели и задачам. Практические рекомендации конкретные и обоснованные, составлены с учетом влияния доноров NO на активность OATP1B1 при назначении статинов, а также использования SNOG как индуктора OATP1B1 в

экспериментах. В этом разделе было бы уместным также более развернутое описание перспектив дальнейших исследований с использованием *in vivo* моделей. Список литературы включает 212 источников, содержит 39 источников отечественной и 173 источника зарубежной литературы.

Полнота освещения результатов в печати

По материалам диссертации 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, 1 патент РФ на изобретение, 1 рационализаторское предложение.

Материалы диссертационного исследования были многократно представлены на Всероссийских и международных конференциях. Работа отмечена дипломом 3 степени на Международном форуме «Эстафета вузовской науки. Инновации.» (Москва, 2025 г.).

Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации.

Таким образом, диссертационная работа Сучковой Ольги Николаевны является значимым вкладом в медицинскую биохимию, а ее автор демонстрирует высокую квалификацию и потенциал для дальнейшей научной деятельности.

Замечания и вопросы

Принципиальных замечаний к стилю изложения и к оформлению диссертации нет.

Имеются вопросы дискуссионного характера:

1. В исследовании в качестве модели *in vitro* использовалась одна клеточная линия HepG2, которая не полностью имитирует первичные гепатоциты. Уточните, пожалуйста, имеются ли различия в регуляции OATP1B1 в норме и при онкологической патологии?

2. Какое физиологическое значение имеет иерархическая последовательность запуска сигнальных путей NO-pГЦ, Nrf2 и LXR α , возможна ли перекрестная регуляция?

Заключение

Диссертация Сучковой Ольги Николаевны «Механизмы регуляции полипептида, транспортирующего органические анионы, 1B1 под действием S-нитрозоглутатиона в эксперименте *in vitro*», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является законченной научно-квалификационной работой, содержит решение научной задачи – установление механизмов регуляции полипептида, транспортирующего органические анионы, 1B1 под действием донора NO S-нитрозоглутатиона. Диссертационная работа соответствует всем требованиям п. 9 «Положения о

присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Сучкова Ольга Николаевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Официальный оппонент:

заведующий кафедрой биохимии имени Р.И. Лифшица,
ведущий научный сотрудник центральной
научно-исследовательской лаборатории
Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Южно-Уральский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации
доктор медицинских наук (03.01.04. Биохимия),
доцент

Синицкий
Антон Иванович



«30» март 2025 г.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Адрес: 454092, Российская Федерация, Уральский Федеральный округ, Челябинская область, г. Челябинск, ул. Воровского д.64
Телефон: +7(351)232-74-76
E-mail: kanc@chelma.ru