

## Отзыв

официального оппонента на диссертационную работу  
Пустыльняка Владимира Олеговича на тему:  
«Молекулярные механизмы активации конститутивного андростанового  
рецептора и регуляции его генов-мишеней в печени лабораторных  
животных»,  
представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук  
по специальности 03.01.04 – *биохимия*

В настоящее время ядерные рецепторы являются важными мишенями, которые рассматриваются в качестве молекулярных мишеней для разработки методов лечения разнообразных патологических состояний. Нарушения передачи сигналов ядерных рецепторов, вызванные дефицитом рецепторов или лигандов, могут серьезно влиять на здоровье и нарушать функции различных органов. Зависимость активности ядерных рецепторов от взаимодействия с лигандами лежит в основе стратегии терапевтического вмешательства для коррекции разнообразных нарушений. Очень перспективным представителем суперсемейства ядерных рецепторов в плане использования в качестве молекулярной мишени для разработки методов терапии является конститутивный андростановый рецептор (CAR), который первоначально был охарактеризован как ксеносенсор, участвующий во взаимодействии живого организма и факторов окружающей среды через регуляцию ферментативных систем детоксикации чужеродных соединений. Данный ядерный рецептор активируется не только химическими соединениями окружающей среды, а также некоторыми эндогенными лигандами, что может играть фундаментальную роль в развитии, росте и поддержании органов и тканей. Итогом активации CAR является экспрессия специфических генов-мишеней, определяющих совокупность множества фенотипических признаков. К настоящему времени показано участие CAR во многих физиологических и патологических процессах, например глюконеогенезе и пролиферации гепатоцитов. Поэтому в современной



научной литературе CAR рассматривается как терапевтическая мишень для разработки лекарств, корректирующих метаболические нарушения, включая гомеостаз глюкозы в печени и регенеративную способность печени. В связи с вышесказанным, исследования, направленные на выявление молекулярных механизмов и особенностей регуляции генов-мишеней CAR, без сомнения, представляют значительный научно-практический интерес и требуют расширения для более глубокого теоретического осмысления. Сочетание фундаментальной и прикладной значимости делает диссертационную работу весьма актуальной.

Всесторонний анализ данных научной литературы позволил Пустыльняку В.О. сформулировать в ясной и отчётливой форме цель и задачи диссертационного исследования.

Диссертационная работа состоит из традиционных разделов: введения, четырех глав (обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследований, обсуждение результатов), выводов и списка литературы. Работа изложена на 171 странице машинописного текста, иллюстрирована 4 таблицами и 31 рисунком. Библиографические ссылки включают более 222 источника современной научной литературы.

В «Обзоре литературы» Пустыльняк В.О. дал представление о предмете изучения и всесторонне осветил историю открытия и изучения конститутивного андростанового рецептора (CAR), его строение, каким образом происходит транскрипция гена CAR, как активируется и ингибируется CAR, описана его роль в метаболизме и элиминации ксенобиотиков, роль CAR в гомеостазе гормонов, регуляции глюконеогенеза в липидном обмене, пролиферации гепатоцитов и в гепатокарциногенезе. В заключении к литературному обзору автор резюмировал чем вызван научный интерес к изучению суперсемейства ядерных рецепторов, почему это столь актуально в последние десятилетия.



В главе «Материалы и методы» детально описаны использованные методы исследования, как классические биохимические (выделение микросом, лизатов печени, ядерных белков, суммарной клеточной РНК, определение концентрации белка, измерение специфичной для CYP2B ферментативной активности, электрофоретическое разделение белков, их иммунохимический анализ), так и современные молекулярно-биологические (реакция обратной транскрипции для суммарной клеточной РНК, полимеразная цепная реакция с детекцией в реальном времени, иммунопреципитация хроматина) и морфологические методы (получение тонких срезов образцов печени, их окрашивание, иммуногистохимическая обработка и иммунофлюоресцентная визуализация), а также экспериментальные протоколы работы с животными. Все вместе, они отражают принятую на сегодняшний день технологию исследований влияния химических соединений на молекулярные процессы в организме.

Глава «Результаты исследования» хорошо структурирована и иллюстрирована. Каждый рисунок является составным и иллюстрирует результаты работы над конкретной задачей. Результаты, отраженные в данной главе, позволяют рассматривать CAR как терапевтическую мишень для корректирования процесса регенерации печени. Так, в результатах отмечено, что активация CAR запускает комплексную транскрипционную программу в гепатоцитах, что вызывает сильный пролиферирующий эффект в печени и перестраивает метаболизм глюкозы. В работе показано, что в основе такого комплексного эффекта лежит способность CAR снижать уровень специфичной для печени miR-122. Кроме того, в работе детально описан молекулярный механизм регуляции в гепатоцитах при активации CAR уровня регулятора клеточного цикла p21, который является ключевым фактором, препятствующим регенерации печени после повреждения.

«Обсуждение результатов» вынесено в отдельную главу. В этой главе Пустыльник В.О. подробно обсудил собственные результаты с привлечением множества литературных источников, выделил то новое знание, что



получено в результате данной работы и наметил перспективы использования этих знаний как для дальнейших научных исследований, так и для практического применения.

В «Выводах» автор обобщает полученные в ходе исследования результаты. Выводы хорошо структурированы и соответствуют поставленным задачам.

Автореферат и опубликованные работы (из них 17 полнотекстовых статьи в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации и входящих в международные реферативные базы данных и систем цитирования Scopus и WoS) полностью отражают основные материалы диссертации и свидетельствуют о значимости, большом объеме и международном признании исследований Пустыльняка В.О. Материалы диссертации прошли очень широкую апробацию на международных конференциях.

Таким образом, диссертационная работа Пустыльняка Владимира Олеговича «Молекулярные механизмы активации конститутивного андростанового рецептора и регуляции его генов-мишеней в печени лабораторных животных», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия, является законченной научно-квалификационной работой, содержащей решение современной актуальной проблемы. По своей актуальности, научной новизне и практической значимости, набором методических подходов, объему выполненных исследований и достоверности полученных результатов диссертационная работа Пустыльняка В.О. полностью соответствует паспорту специальности «Биохимия» и требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. Постановлений Правительства РФ от 30.07.2014 г. №723, от 21.04.2016 г. №335, от 02.08.2016 г. №748, от 29.05.2017 г. №650, от 28.08.2017 г. №1024,

от 01.10.2018 г №1168), предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор Пустыльник В.О. заслуживает присуждения степени доктора биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

Официальный оппонент:

Ведущий научный сотрудник

Лаборатории молекулярных механизмов старения

ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр

Институт цитологии и генетики Сибирского

отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН)

Адрес: 630090, Новосибирск, Россия, пр.ак.Лаврентьева,10

E-mail: stefanovan@mail.ru

телефон +7(383)3634963\*4128

д.б.н.

Н.А. Стефанова

*Заверено*

*Нужен*

*Ученый*



*Т.В. Орлова*

*10.03.2018г.*