

На правах рукописи

Сеидкулиева Адамиана Аманмамедовна

**ВЛИЯНИЕ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА И S-НИТРОЗОГЛУТАТИОНА
НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ПРЕГНАН X РЕЦЕПТОРА И
КОНСТИТУТИВНОГО АНДРОСТАНОВОГО РЕЦЕПТОРА**

1.5.4. Биохимия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Рязань – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент **Щулькин Алексей Владимирович**

Официальные оппоненты:

Котова Юлия Александровна, доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики

Акентьева Наталья Павловна, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр проблем химической физики и медицинской химии Российской академии наук», руководитель группы биохимических и клеточных исследований Отдела кинетики химических и биологических процессов, ведущий научный сотрудник

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины»

Защита состоится «__» _____ 2024 г. в ___ на заседании диссертационного совета 21.2.060.02, созданного на базе ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России по адресу: 390026 г. Рязань, ул. Высоковольтная, д. 9

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России (390026, г. Рязань, ул. Шевченко, д. 34, корп. 2) и на сайте www.rzgmu.ru

Автореферат разослан «_____» _____ 20__ г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат медицинских наук, доцент

Короткова Н.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Прегнан Х рецептор (PXR, *англ.: pregnane X receptor*) и конститутивный андростановый рецептор (CAR, *англ.: constitutive androstane receptor*) являются членами суперсемейства ядерных рецепторов – лиганд-активируемых факторов транскрипции клеток. Взаимодействуя с соответствующими лигандами, коактиваторами и корепрессорами они контролируют защиту организма от ксенобиотиков, дифференцировку клеток, поддержание гомеостаза и метаболические процессы (Creamer B. A. et al., 2020; Lynch C. et al., 2021; Bwayi M. N. et al., 2022; Kamaraj R. et al., 2022; Little M. et al., 2022; Yoshinari K. et al., 2022).

В частности, было показано, что PXR и CAR регулируют экспрессию ферментов I (изоферментов цитохрома P450 CYP3A и CYP2B) и II фазы биотрансформации (УДФ-глюкуронозилтрансферазы 1A1), сульфотрансферазы, переносчиков лекарственных средств (MDR1, MRP2) (Schneider M. et al., 2022), а CAR, кроме того, подавляет экспрессию ферментов углеводного и липидного обменов (Chen K. et al., 2019; Skandalaki A. et al., 2021; Lv Y. et al., 2022).

PXR и CAR локализируются преимущественно в печени и кишечнике (Little M., 2022). Классическим индуктором PXR является рифампицин, CAR – фенobarбитал (Kachaylo E.M. et al., 2011; Kamaraj R. et al., 2022).

Окислительный стресс (ОС) – патологический процесс, возникающий вследствие гиперпродукции активных форм кислорода (АФК) с одной стороны и недостаточной емкости антиоксидантной системы защиты с другой (Надеев А.Д. и др., 2014; Цейликман В. Э. и др., 2022; Sahoo B. M. et al., 2022). Развитие ОС вызывает повреждение биомакромолекул (белков, жиров, углеводов и нуклеиновых кислот) и, как следствие, нарушение нормального функционирования клеток, вплоть до их гибели путем некроза или апоптоза (Liguori I. et al., 2018; Xiang M. et al., 2021; Sahoo B. M. et al., 2022). Кроме того, было показано, что АФК могут выполнять и регуляторную роль, запуская внутриклеточные сигнальные каскады, например, Nrf2/Keap1/ARE. Ядерный фактор эритроидного происхождения-2 (Nrf2, *англ.: nuclear factor erythroid 2-related factor 2*) в физиологических условиях находится в

неактивной форме в цитозоле за счет связывания с белком Keap1, что способствует его быстрой деградации (Yu C. et al., 2021). При развитии ОС АФК способствуют диссоциации Nrf2 и Keap1 путем окисления ключевых остатков цистеина (Cys273, Cys288 и Cys151), регулирующих активность Keap1, или путем активации таких киназ, как протеинкиназа С, митоген-активируемые протеинкиназы, фосфатидилинозитол-3-киназы, которые фосфорилируют Nrf2 (Kaspar J. W. et al., 2009; Kim K. C. et al., 2010). Далее диссоциированный Nrf2 транслоцируется в ядро и связывается с элементами антиоксидантного ответа (ARE, *англ.: antioxidant response elements*), запуская транскрипцию генов, кодирующих антиоксидантные ферменты, а также ферменты, метаболизирующие ксенобиотики, в том числе NAD(P)H-хиноноксидоредуктазу, глутатионтрансферазу, УДФ-глюкуронилтрансферазу, CYP2A5 (Kaspar J. W. et al., 2009; Kim K. C. et al., 2010).

Оксид азота (II) (NO) – эндогенная сигнальная молекула, которая реализует свои основные физиологические функции (участие в вазодилатации, синаптической передаче сигнала, нейрогенезе и т.д.) через активацию растворимой гуанилатциклазы (pГЦ) (Pérez-Torres I. et al., 2020). С другой стороны, при взаимодействии АФК с NO образуются активные формы азота (АФА), например, пероксинитрит, который самостоятельно участвует в многочисленных сигнальных каскадах, а также вызывает повреждение биомолекул (Кытикова О. Ю. и др., 2019; Калинин Р. Е. и др., 2021; Дерягина В. П. и др., 2021).

Поскольку в результате развития окислительного и нитрозативного стресса (ОС/НС) накапливаются продукты повреждения эндогенных молекул, которые являются токсичными для клеток, можно предположить, что в защите клеток от их воздействия могут принимать участие PXR и CAR. Многогранная регуляторная роль NO, АФК и АФА также дает возможность предположить, что в их сигнальных каскадах также могут участвовать данные рецепторы.

Изучение влияния пероксида водорода (H₂O₂) и NO на PXR и CAR, а также выявление механизмов данного влияния является актуальной проблемой биохимии, решение которой позволит расширить представление о молекулярных механизмах регуляции данных рецепторов, разработать подходы к направленной модуляции их

активности и оценить их роль в защите клеток от окислительного и нитрозативного стресса.

Степень разработанности проблемы

В многочисленных исследованиях была установлена важная роль PXR (Zhu H. et al., 2017) и CAR (Yan J. et al., 2015) не только в защите клеток от воздействия ксенобиотиков, но и в регуляции метаболических процессов (Yan J. et al., 2015, Abdelhadya D. H. et al., 2017). При этом в единичных работах оценивалось влияние ОС и NO на функционирование данных рецепторов.

В опытах *in vivo*, проведенных на крысах-альбиносах, было показано, что препарат бромуконазол приводил к гиперпродукции АФК, что сопровождалось повышением экспрессии PXR и его целевого гена *CYP3A1* и снижением экспрессии CAR и его целевого гена *CYP2B1* (Abdelhadya D. H. et al., 2017). Кратковременное воздействие этил-трет-бутилового эфира, вводимого крысам энтерально, активировало ядерные рецепторы CAR и PXR в печени, что приводило к заметному увеличению образования 8-ОН-дезоксигуанозина (Kakehashi A. et al., 2013).

Пероральное введение крысам наночастиц меди в дозе 400 мг/кг приводило к развитию ОС, о чем свидетельствовало повышение уровней малонового диальдегида (МДА), NO и индуцибельной синтазы NO (iNOS). В то же время наблюдалось снижение уровня экспрессии мРНК PXR и CAR (Tang H. et al., 2018).

На кафедре фармакологии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России в течение многих лет выполняются исследования по оценке принадлежности лекарственных веществ к субстратам, индукторам и ингибиторам АТФ-зависимых белков-транспортеров суперсемейства ABC (Якушева Е.Н. и др., 2019). Учитывая, что PXR и CAR являются регуляторами экспрессии генов многих ABC-транспортеров, данное исследование является логичным продолжением научного направления кафедры.

Цель исследования

Изучить влияние пероксида водорода и S-нитрозоглутатиона на относительное количество и внутриклеточную локализацию прегнан X рецептора и конститутивного андростанового рецептора, проанализировать роль в этом процессе

продуктов окислительного, нитрозативного стресса, транскрипционного фактора Nrf2 и NO-цГМФ сигнального пути, а также оценить роль данных рецепторов в защите клеток от окислительного и нитрозативного стресса.

Задачи исследования

1. Изучить влияние пероксида водорода на относительное количество и внутриклеточную локализацию прегнан X рецептора и конститутивного андростанового рецептора.

2. Изучить роль продукта окислительного стресса – малонового диальдегида и транскрипционного фактора Nrf2 в механизмах влияния пероксида водорода на относительное количество прегнан X рецептора и конститутивного андростанового рецептора.

3. Изучить влияние S-нитрозоглутатиона на относительное количество и внутриклеточную локализацию прегнан X рецептора и конститутивного андростанового рецептора.

4. Изучить роль продукта нитрозативного стресса – битирозина и NO-цГМФ сигнального пути в механизме влияния S-нитрозоглутатиона на относительное количество прегнан X рецептора и конститутивного андростанового рецептора.

5. Изучить роль прегнан X рецептора и конститутивного андростанового рецептора в защите клеток при окислительном и нитрозативном стрессе.

Научная новизна

В ходе выполнения работы на клетках линии Caco-2 *in vitro* впервые:

1. Установлено разнонаправленное действие пероксида водорода на уровень прегнан X рецептора и конститутивного андростанового рецептора в зависимости от концентрации и длительности воздействия. Индукция рецепторов не приводит к их транслокации в ядро.

2. Показано, что повышение относительного количества прегнан X рецептора под действием пероксида водорода опосредовано воздействием малонового диальдегида, а индукция конститутивного андростанового рецептора – транскрипционным фактором Nrf2.

3. Выявлено разнонаправленное действие S-нитрозоглутатиона на уровень прегнан X рецептора и конститутивного андростанового рецептора в зависимости от концентрации донора оксида азота (II) и длительности воздействия. Индукция рецепторов не приводит к их транслокации в ядро.

4. Установлено, что индукция прегнан X рецептора и конститутивного андростанового рецептора при воздействии S-нитрозоглутатиона опосредуется воздействием продукта нитрозативного стресса – битирозина. Уменьшение количества прегнан X рецептора и повышение уровня конститутивного андростанового рецептора при низких концентрациях донора оксида азота (II) опосредуется NO-цГМФ-сигнальным путем.

5. Доказано, что прегнан X рецептор и конститутивный андростановый рецептор не играют защитной роли при развитии окислительного и нитрозативного стресса, а, наоборот, повышают чувствительность клеток к данным процессам.

Теоретическая и практическая значимость работы

В ходе исследования, проведенного на клетках линии Caco-2, установлены механизмы разнонаправленного влияния H_2O_2 и S-нитрозоглутатиона (GSNO) на относительное количество PXR и CAR.

В частности, показано, что повышение относительного количества PXR под действием H_2O_2 опосредовано воздействием МДА, а увеличение уровня CAR – транскрипционным фактором Nrf2. Индукция PXR и CAR при воздействии GSNO опосредуется воздействием продукта нитрозативного стресса (HC) – битирозина. Уменьшение количества PXR и повышение уровня CAR при низких концентрациях донора NO реализуется через NO-цГМФ-сигнальный путь.

Результаты работы имеют важное практическое значение. Выявленные новые механизмы регуляции PXR и CAR могут являться мишенями для направленной модуляции данных рецепторов, что важно для повышения эффективности терапии ряда заболеваний, в частности, онкологической патологии.

Методология и методы исследования

Работа выполнена *in vitro* с использованием клеточной линии аденокарциномы ободочной кишки человека (линии Caco-2).

H_2O_2 использовали в качестве индуктора ОС, GSNO – в качестве донора NO.

Выраженность ОС определяли по уровню продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и карбонильных производных белков, HC – по содержанию метаболитов NO, пероксинитрита и битирозина. Цитотоксическое действие изучаемых агентов анализировали по результатам МТТ-теста. Относительное количество PXR и CAR анализировали методом вестерн-блот, их внутриклеточную локализацию – с помощью иммуноцитохимии.

Роль транскрипционного фактора Nrf2 и цГМФ-сигнального пути в регуляции PXR и CAR была изучена с помощью применения их специфических ингибиторов.

Полученные результаты анализировались с помощью программ «Statsoft Statistica 13.0» (США, номер лицензии JPZ811I521319AR25ACD-W) и GraphPad Prism 8.

Положения, выносимые на защиту

1. Пероксид водорода (10-100 мкМ) при длительности воздействия 24 ч повышает уровень PXR, а при экспозиции 72 ч (50 и 100 мкМ) снижает уровень рецептора. Относительное количество CAR при воздействии H_2O_2 в течение 72 ч может как увеличиваться (при концентрациях 5-50 мкМ), так и снижаться (100 мкМ). Повышение количества изучаемых рецепторов не сопровождается их транслокацией в ядро.

2. Повышение относительного количества PXR под действием H_2O_2 при 24-часовом воздействии опосредовано накоплением МДА, а индукции CAR под действием H_2O_2 при длительности экспозиции 72 ч – транскрипционным фактором Nrf2.

3. Донор NO GSNO при длительности воздействия 3 ч (1-500 мкМ) и 72 ч (10-500 мкМ) снижает, а при 24 ч (1-50 мкМ) повышает относительное количество PXR. При длительности эксперимента 72 ч GSNO в концентрациях 1, 10 и 50 мкМ увеличивает, а в концентрациях 100 и 500 мкМ снижает содержание CAR. Повышение уровня изучаемых рецепторов не сопровождается их транслокацией в ядро.

4. Индукция PXR и CAR при воздействии GSNO опосредуется влиянием

продукта нитрозативного стресса – битирозина. Уменьшение количества PXR при экспозиции 3 и 72 ч и повышение уровня CAR при 72-часовом воздействии донора NO в концентрации 1 мкМ опосредуются NO-цГМФ-сигнальным путем.

5. PXR и CAR повышают чувствительность клеток к окислительному и нитрозативному стрессу.

Степень достоверности

Высокая степень достоверности полученных результатов обусловлена достаточным объемом экспериментальных данных, полученных с использованием адекватных и современных методов исследования с последующей систематизацией и статистической обработкой.

Апробация результатов

Основные положения диссертации представлены, обсуждены и опубликованы в материалах XXIV Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 2021); III Всероссийской конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Естественнонаучные основы медико-биологических знаний» (Рязань, 2021); XXVII Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины – 2021» (Санкт-Петербург, 2021); X Международной конференции «Рецепторы и внутриклеточная сигнализация» (Пушино, 2021); VIII Всероссийской научной конференции молодых специалистов, аспирантов, ординаторов «Инновационные технологии в медицине: взгляд молодого специалиста» (Рязань, 2022); XXVIII Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины – 2022» (Санкт-Петербург, 2022); XXV Международной Пушинской школе-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века» (Пушино, 2022); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Биохимические научные чтения памяти академика РАН Е.А. Строева» (Рязань, 2022); XXVI Международной Пушинской школе-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века» (Пушино, 2023); Всероссийской конференции с международным участием «Алмазовский

молодежный медицинский форум-2023» (Санкт-Петербург, 2023); LXXXIV Ежегодной итоговой научно-практической конференции студентов и молодых учёных с международным участием «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины – 2023» (Санкт-Петербург, 2023).

Апробация работы состоялась 22 июня 2023 года на заседании кафедр ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России: фармакологии; биологической химии с курсом клинической лабораторной диагностики ФДПО; фармацевтической химии; фармацевтической технологии; биологии; управления и экономики фармации.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации №МК-1856.2020.7.

Внедрение результатов исследования в практику

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

Личный вклад автора

Автор самостоятельно подготовил обзор литературы по направлению темы диссертационной работы; провел эксперименты *in vitro*; выполнил биохимические исследования; обработал и интерпретировал полученные результаты; подготовил печатные работы по изучаемой проблематике. В целом, личный вклад автора в исследование превышает 90%.

Сведения о публикациях по теме диссертации

По результатам диссертационной работы опубликовано 17 печатных работ: 5 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России и входящих в базы данных Web of Science и Scopus; 12 тезисов докладов в материалах российских и международных конференций; получен 1 патент РФ на изобретение.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 142 страницах и включает в себя

следующие разделы: введение, глава 1 – обзор литературы, глава 2 – материалы и методы исследования, глава 3 – результаты исследования, обсуждение, заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений, список литературы.

Диссертация иллюстрирована 51 рисунком и 2 таблицами. Список литературы представлен 272 источниками, включая 30 источников отечественной и 242 – зарубежной литературы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Исследование выполнено на линии клеток аденокарциномы ободочной кишки человека (Caco-2) (ЦКП «Коллекция культур клеток позвоночных», Санкт-Петербург, Россия). Клетки культивировали в течение 21 суток (при данном сроке происходит их спонтанная дифференцировка в энтероцитоподобные клетки, экспрессирующие PXR и CAR (Elsby R. et al., 2008)) в Дульбекко модифицированной среде Игла (DMEM) с высоким содержанием глюкозы (4500 мг/л) («Sigma-Aldrich», Германия), с добавлением L-глутамина (4 mM) («Sigma-Aldrich», Германия), 15% эмбриональной бычьей сыворотки («Sigma-Aldrich», Германия), 100 ед/мл и 100 мкг/мл пенициллина и стрептомицина («Sigma-Aldrich», Германия) соответственно при температуре 37°C и содержании CO₂ 5%.

Для оценки влияния пероксида водорода на прегнан X рецептор и конститутивный андростановый рецептор были сформированы следующие серии: 1) контроль; 2) оценка влияния H₂O₂ на количество PXR и CAR и показатели ОС. H₂O₂ добавляли в культуральную среду в конечных концентрациях 0,1; 0,5; 1; 5; 10; 50 и 100 мкМ и инкубировали в течение 3, 24 и 72 ч; 3) исследование влияния МДА (продукта перекисного окисления липидов, «Sigma-Aldrich», Германия) в концентрациях 10, 100 и 150 мкМ и длительности воздействия 24 и 72 ч на количество PXR и CAR; 4) изучение роли транскрипционного фактора Nrf2 во влиянии H₂O₂ на количество PXR и CAR. В питательную среду за 30 мин до добавления H₂O₂ вносили ингибитор Nrf2 –

АЕМ1 («Sigma-Aldrich», Германия) в концентрации 5 мкМ; 5) оценка роли PXR и CAR в защите клеток от ОС. В питательную среду за 30 мин до добавления H_2O_2 вносили ингибитор PXR – кетоконазол в концентрации 10 мкМ («Sigma-Aldrich», Германия) (Kota V. P. et al., 2010) или ингибитор CAR – CINPA 1 («TOCRIS», Великобритания) в концентрации 10 мкМ (Cherian M.T. et al., 2015). После окончания инкубации анализировали выживаемость клеток с помощью МТТ-теста.

При оценке влияния S-нитрозоглутатиона на прегнан X рецептор и конститутивный андростановый рецептор были сформированы следующие серии: 1) контроль; 2) оценка влияния донора NO GSNO на количество PXR и CAR. GSNO добавляли в культуральную среду в конечных концентрациях 1, 10, 50, 100 и 500 мкМ и инкубировали 3, 24 и 72 ч; 3) исследование влияния битиросина (продукта нитрозативного стресса, «Cambridge Isotope Laboratories», Франция) в концентрациях 0,2; 0,4; 1 и 1,5 мМ и длительности инкубации 24 ч на относительное количество PXR и CAR; 4) изучение роли NO-цГМФ сигнального пути во влиянии GSNO на количество PXR и CAR. В питательную среду за 30 мин до добавления GSNO вносили ингибитор рГЦ – ODQ («Sigma-Aldrich», Германия) в концентрации 10 мкМ (Hwang T.L. et al., 1998); 5) оценка роли PXR и CAR в защите клеток от НС. В культуральную среду за 30 мин до добавления GSNO вносили ингибитор PXR – кетоконазол в концентрации 10 мкМ (Kota V. P. Et al., 2010) или ингибитор CAR – CINPA 1 в концентрации 10 мкМ (Cherian M.T. et al., 2015). После окончания инкубации анализировали выживаемость клеток с помощью МТТ-теста.

Для анализа цитотоксичности H_2O_2 и GSNO и проведения иммуноцитохимических исследований клетки засеивали в 96-луночные планшеты («Corning», США); для изучения влияния тестируемых веществ на количество PXR, CAR и концентрацию продуктов окислительного и нитрозативного стресса – в 6-луночные планшеты («Corning», США). На каждый эксперимент было выполнено по 3 повторения. Выраженность окислительного

стресса оценивали по уровню карбонильных производных белков (Weber D. Et al., 2015), продуктов перекисного окисления липидов (Gérard-Monnier D. Et al., 1996); выраженность нитрозативного стресса – по содержанию метаболитов NO (Метельская В. А. и др., 2005), битирозина (Amadò R. et al., 1984) и пероксинитрита (Путинцева О.В. и др., 2018; Lobysheva I.I. et al., 1999). Относительное количество PXR и CAR анализировали методом вестерн блот. Для исследования использовали первичные антитела MA5-31808PXR Monoclonal Antibody (1D12G1, «Invitrogen», США), MB67 Monoclonal Antibody («Invitrogen», США) в разведении 1:200, вторичные антитела Rabbit anti-Mouse IgG (H+L) Secondary Antibody, HRP («Invitrogen», США) в разведении 1:4000. Количество CAR и PXR оценивали относительно содержания GAPDH с использованием первичных антител GAPDH Loading Control Monoclonal Antibody (GA1R), DyLight68 (1:1000; «Invitrogen», США) и вторичных антител Rabbit anti-Mouse IgG (H+L) Secondary Antibody (1:4000; «Invitrogen», США). Внутриклеточную локализацию PXR и CAR оценивали иммуноцитохимически с использованием первичных антител к PXR (DF6478 Polyclonal NR1I2 Antibody, «Cloud-Clone Corp», КНР) и CAR (DF6725 Polyclonal NR1I3 Antibody, «Cloud-Clone Corp», КНР) и вторичных антител (S0018 Polyclonal Goat Anti-Rabbit IgG (H+L) Fluor488-conjugated, «Affinity Biosciences», КНР). Визуализацию клеток выполняли с помощью флуоресцентного микроскопа Olympus CKX-53 («Olympus», Япония).

Полученные результаты анализировались с помощью программ «Statsoft Statistica 13.0» (США, номер лицензии JPZ811I521319AR25ACD-W) и GraphPadPrism 8. Для оценки статистической значимости различий между двумя группами использовали t-критерий Стьюдента, при сравнении более чем двух групп применяли дисперсионный анализ (ANOVA), попарные сравнения выполняли с помощью критерия Ньюмена-Кейлса. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Условные обозначения представлены в виде: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$; **** – $p < 0,0001$ – статистически значимые отличия от показателей контроля. Данные в таблицах и на графиках представлены в виде среднего

арифметического и стандартного отклонения ($M \pm SD$).

Результаты исследования и их обсуждение

Влияние пероксида водорода на прегнан X рецептор и конститутивный андростановый рецептор.

Уровень карбонильных производных белков повышался при воздействии H_2O_2 в концентрациях 50-100 мкМ в течение 3 и 72 ч и в концентрациях 5-100 мкМ в течение 24 ч. Уровень продуктов ПОЛ возрастал при воздействии H_2O_2 в концентрации 100 мкМ в течение 3 ч и в концентрациях H_2O_2 50-100 мкМ в течение 24 и 72 ч (Таблица 1). Жизнеспособность клеток снижалась на всех сроках воздействия в концентрациях H_2O_2 50-100 мкМ (Рисунок 1).

Таблица 1 - Концентрация карбонильных производных белков и продуктов перекисного окисления липидов (мкмоль/мг белка) в лизате клеток линии Сасо-2 при воздействии H_2O_2 в концентрациях 0,1-100 мкМ в течении 3, 24 и 72 ч ($M \pm SD$, $n=3$)

Конц. H_2O_2 , мкМ	Карбонильные производные белков (мкмоль/мг белка)			Продукты перекисного окисления липидов (мкмоль/мг белка)		
	Сроки инкубации			Сроки инкубации		
	3 ч	24 ч	72 ч	3 ч	24 ч	72 ч
Контроль	0,27±0,03	0,27±0,084	0,30±0,05	2,25±0,24	2,40±0,12	2,18±0,13
0,1	0,33±0,18	0,24±0,07	0,29±0,02	2,22±0,41	2,62±0,19	1,96±0,16
0,5	0,34±0,03	0,36±0,06	0,28±0,05	1,78±0,23	2,08±0,20	2,06±0,34
1	0,28±0,09	0,32±0,03	0,25±0,01	1,91±0,05	2,36±0,21	2,27±0,19
5	0,32±0,03	0,53±0,06 **	0,27±0,01	2,16±0,36	2,49±0,33	2,42±0,20
10	0,38±0,05	0,64±0,06 **	0,30±0,02	2,12±0,07	2,66±0,31	2,66±0,26
50	0,51±0,02 ***	0,74±0,09 ***	0,41±0,05 ***	2,29±0,22	3,41±0,30 **	6,44±0,58 ***
100	0,64±0,04 ***	0,67±0,02 ***	0,63±0,04 ***	3,05±0,35 *	3,77±0,20 **	9,24±0,59 ***

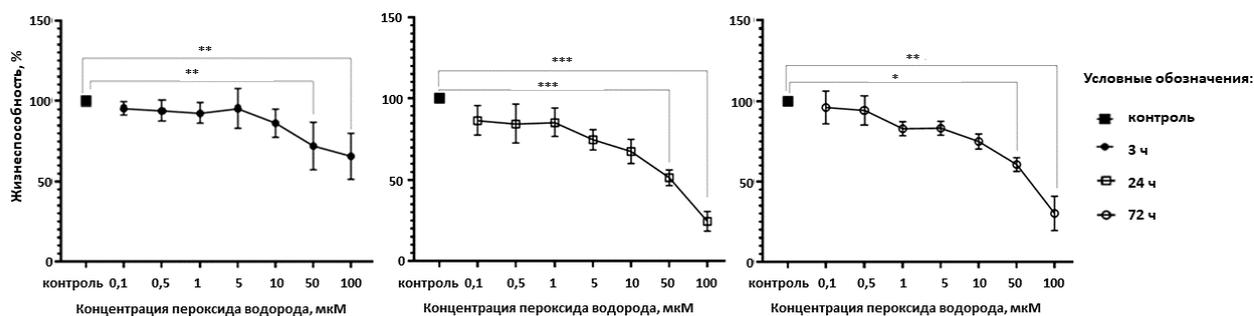


Рисунок 1 - Жизнеспособность клеток линии Сасо-2 при воздействии H_2O_2 в концентрациях 0,1-100 мкМ в течение 3, 24 и 72 ч ($M \pm SD$, $n=3$)

Относительное количество PXR повышалось при воздействии H_2O_2 в концентрациях 10-100 мкМ в течение 24 ч и снижалось при воздействии H_2O_2 в концентрациях 50-100 мкМ в течение 72 ч (Рисунок 2). H_2O_2 при сроке воздействия

72 ч вызывал повышение относительного количества CAR в концентрациях 5-50 мкМ и снижение данного показателя в концентрации 100 мкМ (Рисунок 2).

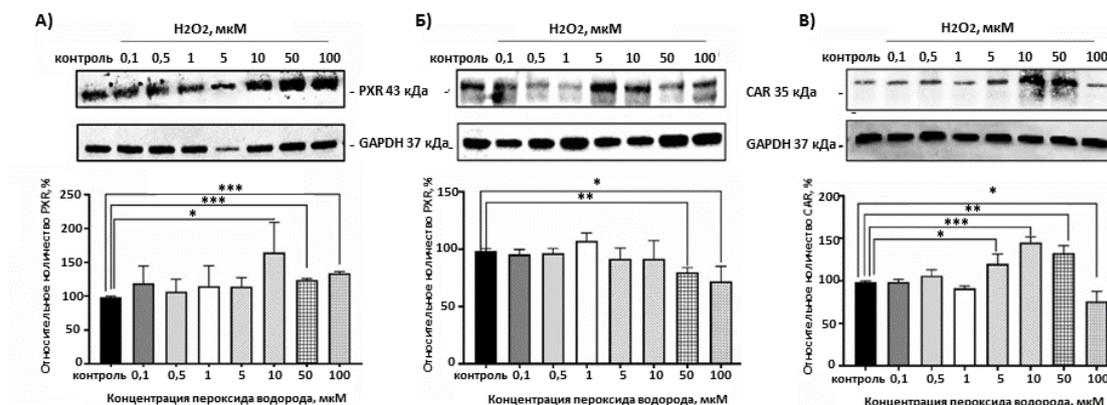


Рисунок 2 - Изменение относительного количества PXR (24 (А) и 72 ч (Б)) и CAR (72 ч (В)) при воздействии H₂O₂ в концентрациях 0,1-100 мкМ (M±SD, n=3)

Примечание: здесь и далее представлены результаты денситометрического анализа, выполненного с помощью программного обеспечения ImageLab, и фото бендов, полученных с помощью ChemiDocXRS+ («Bio Rad», США).

При увеличении относительного количества PXR и CAR данные рецепторы преимущественно концентрировались в цитоплазме, а не в ядре, что косвенно свидетельствует об отсутствии их активации (Рисунок 3).

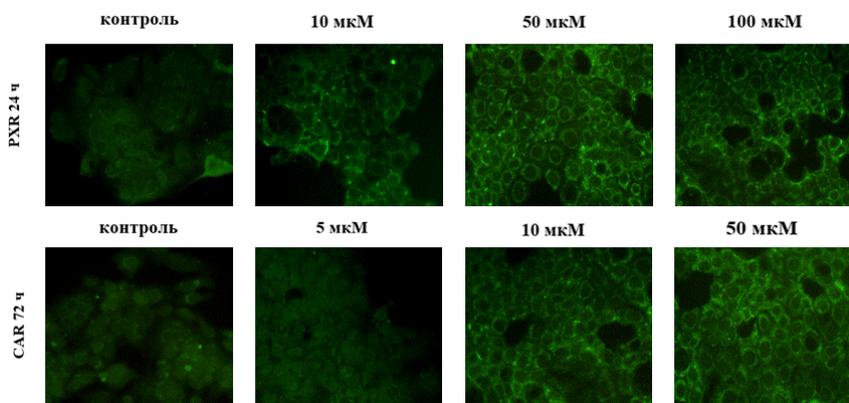


Рисунок 3 - Иммуноцитохимическое окрашивание клеток Caco-2 с использованием антител к PXR и CAR, увеличение × 400 раз

Инкубирование клеток линии Caco-2 в течение 24 ч с МДА в концентрации 10 мкМ повышало количество PXR, а в концентрациях 100 мкМ и 150 мкМ достоверного эффекта не оказывало (Рисунок 4). МДА во всех протестированных концентрациях (10-150 мкМ) и сроках воздействия (24-72 ч) достоверно не влиял на относительное количество CAR.

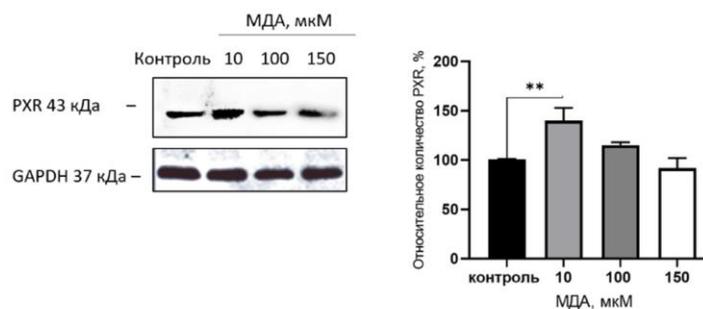


Рисунок 4 - Относительное количество PXR в клетках линии Сасо-2 при воздействии МДА в концентрациях 10-150 мкМ в течение 24 ч

Ингибирование Nrf2 при воздействии H_2O_2 в течение 24 ч не влияло на индуцирующее действие прооксиданта на уровень PXR. Относительное количество рецептора увеличивалось при воздействии H_2O_2 во всех концентрациях. Относительное количество CAR при сочетанном воздействии АЕМ1 и H_2O_2 в концентрации 10 мкМ возрастало, при 50 мкМ не изменялось, а при 100 мкМ снижалось по сравнению с контролем (Рисунок 5).

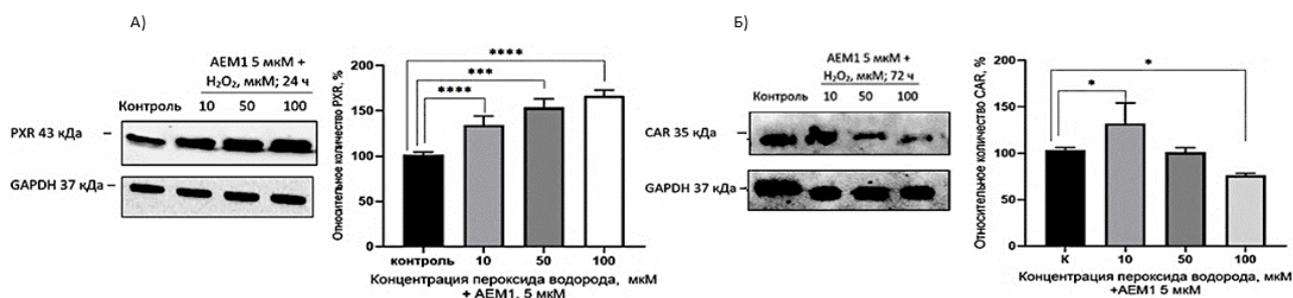


Рисунок 5 - Относительное количество PXR (24 ч (А)) и CAR (72 ч (Б)) в клетках линии Сасо-2 при воздействии H_2O_2 в концентрациях 10-100 мкМ в условиях ингибирования Nrf2 АЕМ1 в концентрации 5 мкМ ($M \pm SD$, $n = 3$)

Таким образом, повышение относительного количества PXR под действием H_2O_2 при 24-часовом воздействии опосредовано накоплением МДА, а индукция CAR под действием H_2O_2 при длительности экспозиции 72 ч – транскрипционным фактором Nrf2.

Ингибирование PXR и CAR кетоконазолом и CINPA1 соответственно предотвращало снижение жизнеспособности клеток под действием H_2O_2 , во всех концентрациях прооксиданта данный показатель достоверно от значений контроля

не отличался. Полученные данные свидетельствуют о том, что PXR и CAR повышают чувствительность клеток к ОС (Рисунок 6).

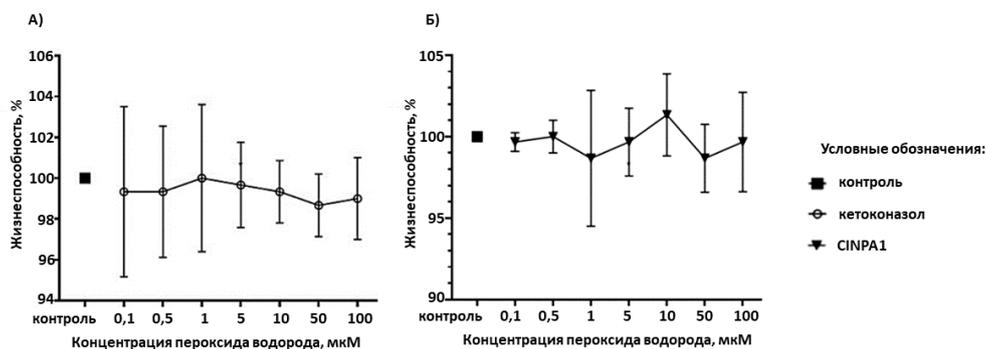


Рисунок 6 - Жизнеспособность клеток линии Сасо-2 при воздействии H_2O_2 в концентрациях 0,1-100 мкМ в условиях ингибирования PXR кетоконазолом (10 мкМ) в течение 24 ч (А) и в условиях ингибирования CAR CINPA1 (10 мкМ) в течение 72 ч (Б) ($M \pm SD$, $n=3$)

Влияние S-нитрозоглутатиона на прегнан X рецептор и конститутивный андростановый рецептор

GSNO во всех концентрациях (1-500 мкМ) и всех сроках эксперимента повышал уровень метаболитов оксида азота в клетках линии Сасо-2, максимально при концентрации 500 мкМ (Таблица 2). Уровень пероксинитрита увеличивался при инкубации с GSNO в концентрациях 100 и 500 мкМ длительностью 3 и 24 ч. При повышении длительности экспозиции до 72 ч содержание пероксинитрита возрастало по сравнению с контролем при всех концентрациях GSNO, максимально - при концентрации 500 мкМ (Таблица 2). GSNO во всех концентрациях и сроке инкубации 3 ч не влиял на содержание битирозина в лизате клеток линии Сасо-2. Данный показатель статистически значимо возрастал при действии GSNO в концентрациях 10-500 мкМ и сроках инкубации 24 и 72 ч (Таблица 2). В заключении было оценено цитотоксическое действие GSNO в ходе выполнения МТТ-теста. GSNO в концентрациях 1-500 мкМ и длительности инкубации 3 ч достоверно не влиял на жизнеспособность клеток. При воздействии GSNO в концентрациях 100 мкМ и 500 мкМ и длительности инкубации 24 ч жизнеспособность снижалась. Увеличение длительности экспозиции до 72 ч приводило к снижению жизнеспособности клеток при концентрации GSNO 50-500 мкМ (Рисунок 7).

Таблица 2 - Концентрация метаболитов оксида азота (II), пероксинитрита и битирозина (нмоль/мг белка) в лизате клеток линии Сасо-2 при воздействии S-нитрозоглутатиона (GSNO) в концентрациях 1-500 мкМ в течении 3, 24 и 72 ч (M±SD, n=3).

Конц. GSNO, мкМ	Концентрации метаболитов NO (нмоль/мг белка)			Концентрации пероксинитрита (нмоль/мг белка)			Концентрации битирозина (нмоль/мг белка)		
	Сроки инкубации			Сроки инкубации			Сроки инкубации		
	3 ч	24 ч	72 ч	3 ч	24 ч	72 ч	3 ч	24 ч	72 ч
Конт-роль	11,4±0,4	10,7±0,3	10,8±0,5	9,4±0,8	9,7±0,7	12,2±1,9	0,34±0,005	0,31±0,002	0,304±0,005
1	12,6±0,1*	12,7±1,1**	13,6±0,5**	11,1±2,0	11,2±1,1	18,4±1,6**	0,314±0,004	0,33±0,01	0,338±0,007
10	14,5±0,1****	14,7±0,6***	14,3±0,7***	11,8±1,4	11,8±1,6	20,4±1,3***	0,316±0,011	0,367±0,02**	0,394±0,022****
50	14,9±0,9****	15,6±0,9****	16,9±0,7****	12,3±1,9	12,1±1,2	20,4±0,7***	0,333±0,007	0,379±0,002***	0,378±0,003****
100	15,4±0,5****	16,1±0,7****	17,9±0,9****	15,8±1,2**	13,0±1,0**	22,4±2,3****	0,299±0,005	0,401±0,019****	0,385±0,003****
500	17,3±0,4****	17,0±0,2****	18,2±0,8****	18,1±0,5***	14,9±0,8***	22,5±1,2****	0,318±0,003	0,418±0,019****	0,415±0,003****

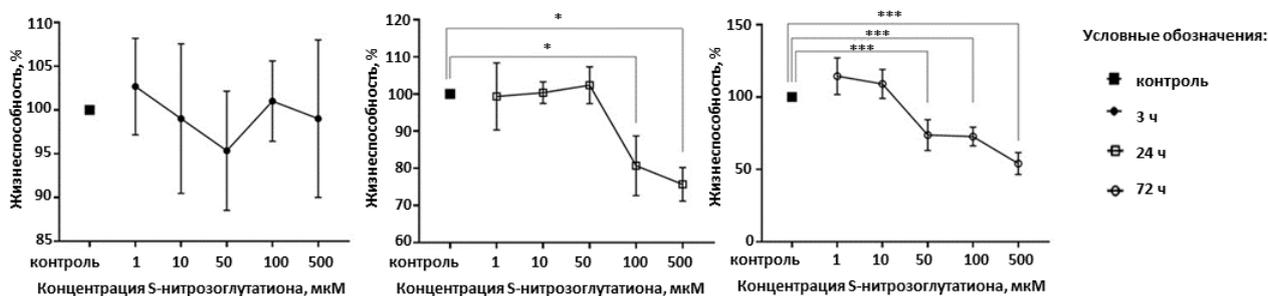


Рисунок 7 - Жизнеспособность клеток линии Сасо-2 при воздействии S-нитрозоглутатиона в концентрациях 1-500 мкМ в течение 3, 24 и 72 ч

Инкубирование клеток линии Сасо-2 с GSNO во всех концентрациях в течение 3 ч приводило к снижению количества PXR по сравнению с показателями контроля (Рисунок 8 А) и не влияло на содержание CAR. Увеличение длительности экспозиции до 24 ч сопровождалось повышением количества PXR при концентрациях GSNO 1-50 мкМ и снижением данного показателя при концентрации 500 мкМ (Рисунок 8 Б), при этом количество CAR не изменялось. Инкубирование клеток с GSNO в течение 72 ч приводило к снижению уровня PXR и CAR при концентрациях донора NO 10-500 мкМ и 100-500 мкМ соответственно и к увеличению относительного количества CAR при концентрациях GSNO 1-50 мкМ

(Рисунок 8 В, Г).

При увеличении относительного количества PXR и CAR данные рецепторы распределялись преимущественно в цитоплазме, что косвенно свидетельствует об отсутствии их активации (Рисунок 9).

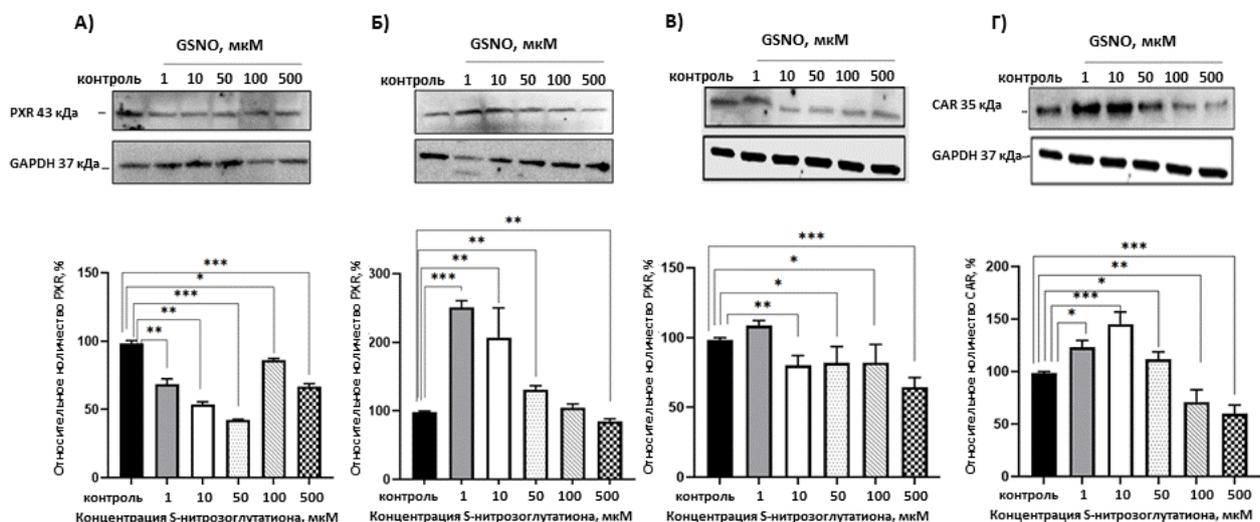


Рисунок 8 - Относительное количество PXR (3 (А), 24 (Б), 72 ч (В)) и CAR (72 ч (Г)) в клетках линии Сасо-2 при воздействии S-нитрозоглутатина в концентрациях 1-500 мкМ ($M \pm SD$, $n = 3$)

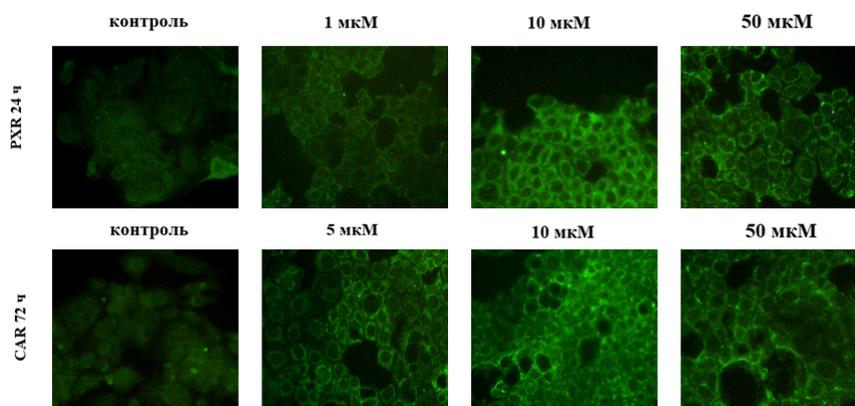


Рисунок 9 - Иммуноцитохимическое окрашивание клеток Сасо-2 с использованием антител к PXR и CAR, увеличение $\times 400$ раз

При воздействии продукта нитрозативного стресса битирозина в концентрации 0,4 мМ в течение 24 ч на клетки линии Сасо-2 возрастало количество PXR, а в течение 72 ч – количество CAR (Рисунок 10).

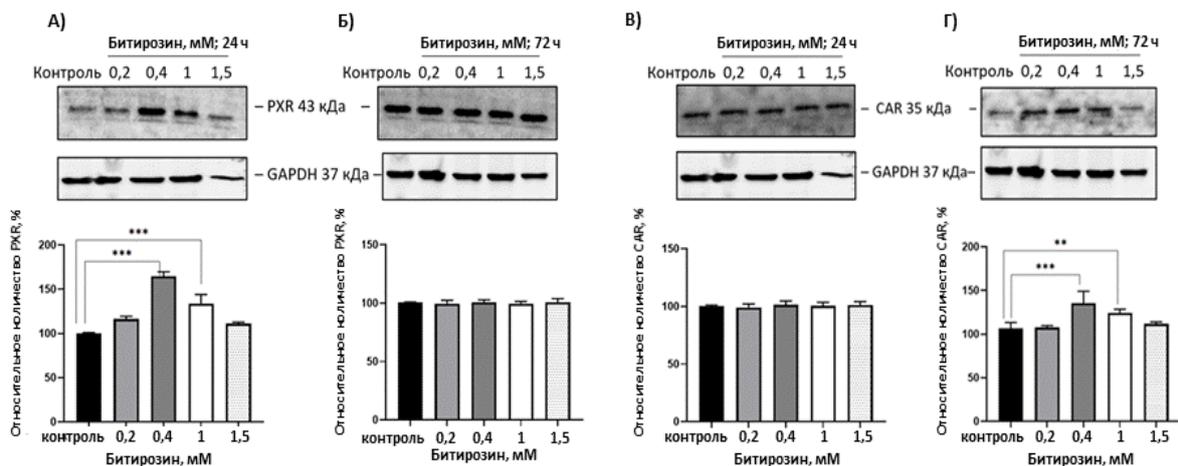


Рисунок 10 - Относительное количество PXR (24 (А) и 72 ч (Б)) и CAR (24 (В) и 72 ч (Г)) в клетках линии Сасо-2 при воздействии битиروزина в концентрациях 0,2-1,5 мМ (М ±SD, n = 3).

Ингибитор рГц ODQ предотвращал снижение относительного количества PXR под действием GSNO в концентрациях 1-500 мкМ при инкубации 3 ч и в концентрациях 10-500 мкМ при инкубации в течение 72 ч, содержание рецептора достоверно от показателей контроля не отличалось (Рисунок 11 А, Б, В).

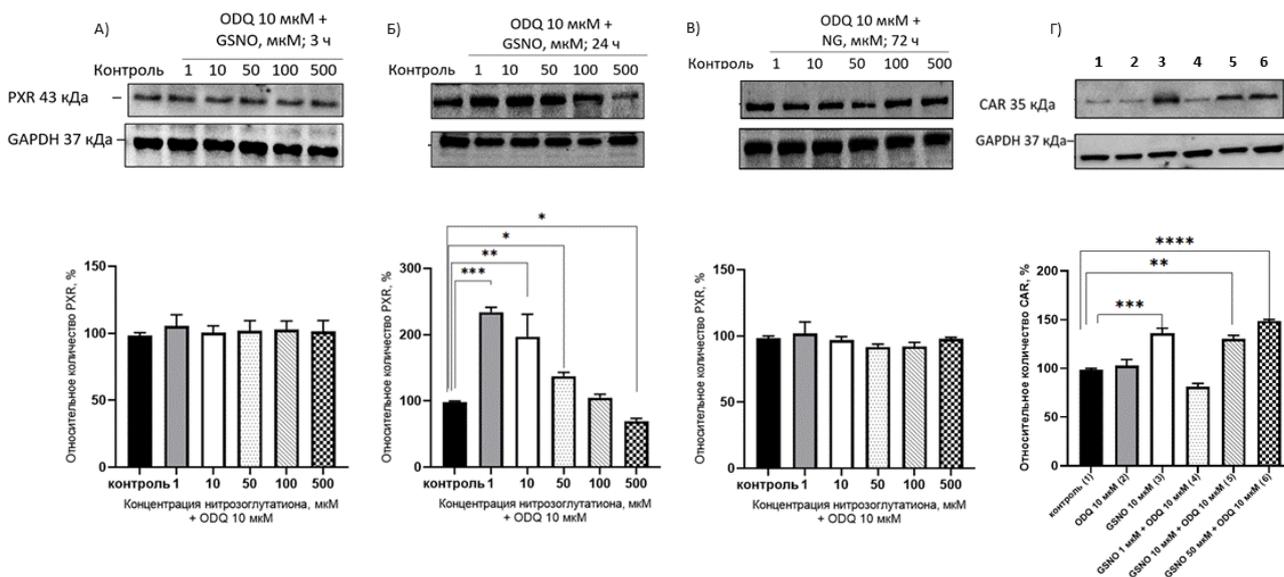


Рисунок 11 - Относительное количество PXR (3 (А), 24 (Б) и 72 ч (В)) и CAR (72 ч (Г)) в клетках линии Сасо-2 при воздействии S-нитрозоглутатиона в условиях ингибирования растворимой гуанилатциклазы ODQ в концентрации 10 мкМ

Сочетанное применение ODQ и GSNO при 72 ч инкубации в концентрации 1 мкМ приводило к нормализации относительного количества CAR по сравнению с контролем (индуцирующий эффект GSNO подавлялся ODQ). В то же время ODQ не влиял на действие GSNO в концентрации 10 и 50 мкМ, относительное количество

CAR возрастало по сравнению с контролем (самостоятельный эффект GSNO) (Рисунок 11 Г).

Таким образом, индукция PXR и CAR при воздействии GSNO опосредуется влиянием продукта нитрозативного стресса – битирозина. Уменьшение количества PXR при экспозиции 3 и 72 ч и повышение уровня CAR при 72-часовом воздействии донора NO в концентрации 1 мкМ опосредуются NO-цГМФ-сигнальным путем.

Ингибирование PXR и CAR кетоконазолом и CINPA1 соответственно предотвращало снижение жизнеспособности клеток под действием GSNO, данный показатель достоверно от значений контроля не отличался (Рисунок 12). Полученные данные свидетельствуют о том, что PXR и CAR повышают чувствительность клеток к НС.

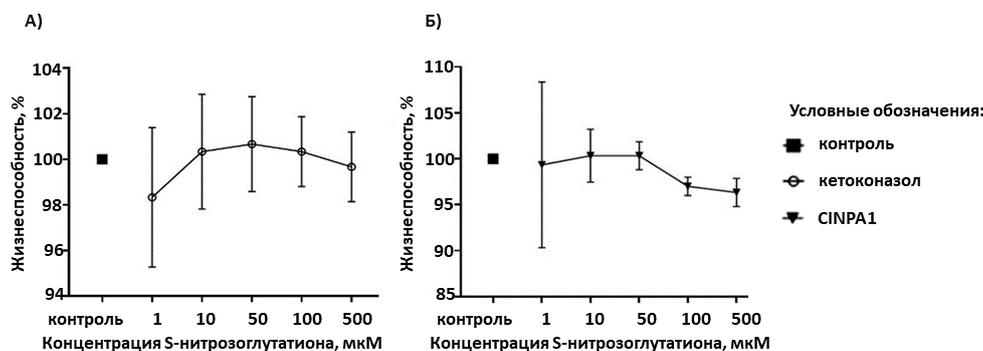


Рисунок 12 - Жизнеспособность клеток линии Caco-2 при воздействии S-нитрозоглутатиона в концентрациях 1-500 мкМ в условиях ингибирования PXR кетоконазолом (10 мкМ) в течение 24 ч (А) и в условиях ингибирования CAR CINPA1 (10 мкМ) в течение 72 ч (Б) ($M \pm SD$, $n=3$)

ВЫВОДЫ

1. Пероксид водорода при экспозиции 3 ч не влияет на относительное количество PXR и CAR, при длительности воздействия 24 ч в концентрациях 10-100 мкМ повышает уровень PXR и не влияет на CAR, при 72-часовом эксперименте в концентрациях 5 - 50 мкМ увеличивает содержание CAR, а в концентрациях 50-100 мкМ и 100 мкМ уменьшает количество PXR и CAR соответственно. Повышение количества изучаемых рецепторов не сопровождается их транслокацией в ядро.

2. Конечный продукт перекисного окисления липидов малоновый диальдегид повышает относительное количество PXR только в концентрации 10 мкМ и

длительности воздействия 24 ч и не влияет на уровень CAR. Транскрипционный фактор Nrf2 принимает участие в индукции CAR под действием пероксида водорода в концентрации 50 мкМ и длительности воздействия 72 ч и не связан с индукцией PXR под действием прооксиданта при экспозиции 24 ч.

3. Донор оксида азота (II) S-нитрозоглутатион при длительности воздействия 3 ч в концентрациях 1-500 мкМ снижает относительное количество PXR и не влияет на CAR, при 24-часовой экспозиции в концентрациях 1-50 мкМ повышает, в концентрации 500 мкМ снижает уровень PXR и не оказывает воздействия на CAR, а при длительности эксперимента 72 ч в концентрациях 10-500 мкМ снижает относительное количество PXR, в концентрациях 1-50 мкМ увеличивает, а в концентрациях 100 и 500 мкМ уменьшает содержание CAR. Повышение количества изучаемых рецепторов не сопровождается их транслокацией в ядро.

4. Продукт нитрозативного стресса – битирозин вызывает индукцию PXR при длительности воздействия 24 ч и индукцию CAR при экспозиции 72 ч. Ингибирование NO-цГМФ-сигнального пути предотвращает снижение относительного количества PXR, вызванного GSNO при экспозиции 3 и 72 ч, а также препятствует повышению уровня CAR при 72-часовом воздействии донора оксида азота (II) в концентрации 1 мкМ.

5. Ингибирование PXR и CAR оказывает защитное действие и повышает выживаемость клеток при развитии окислительного и нитрозативного стресса.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Воздействие H₂O₂ (для PXR в концентрациях 10-100 мкМ в течение 24 ч, для CAR - 5-50 мкМ в течение 72 ч), МДА (для PXR в концентрации 10 мкМ в течение 24 ч) и битирозином (для PXR в концентрациях 0,4 мМ и 1 мМ в течение 24 ч, для CAR - 0,4 и 1 мМ в течение 72 ч) можно использовать с целью индукции CAR и PXR.

2. Кратковременное воздействие донора NO S-нитрозоглутатиона во всех концентрациях (1-500 мкМ) можно использовать для ингибирования PXR.

3. Воздействие S-нитрозоглутатиона в концентрации 500 мкМ в течение 72 ч можно использовать в целях ингибирования CAR.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Влияние нитрозативного стресса на функционирование конститутивного андростанового рецептора и прегнан Х рецептора / Е.А. Судакова, **А.А. Сеидкулиева**, М.О. Порошина [и др.] – Текст: непосредственный // *Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье: материалы XXIV Междунар. мед.-биол. конф. молодых исследователей.* – СПб.: СПбГУ, Сциентиа, 2021. – С.768-769. – (Соавт.: Ю.В. Абаленихина, А.В. Щулькин).
2. Влияние окислительного и нитрозативного стресса на функционирование прегнан Х рецептора / А.В. Щулькин, Ю.В. Абаленихина, Е.А. Судакова [и др.] – Текст: непосредственный // *«Рецепторы и внутриклеточная сигнализация», Сборник статей.* - Пушкино, 2021. – С. 564-567. – (Соавт.: **А.А. Сеидкулиева**, А. А. Слепнев, Е. Н. Якушева).
3. Динамика биохимических показателей при моделировании нитрозативного стресса *in vitro* / Е.А. Судакова, М.О. Порошина, Ю.В. Абаленихина [и др.] – Текст: непосредственный // *Естественнонаучные основы медико-биологических знаний: Материалы III Всероссийской конф. студентов и молодых ученых с междунар. участием.* - Рязань, 2021. – С. 3-5. – (Соавт.: **А.А. Сеидкулиева**, А.В. Щулькин).
4. Изменение количества конститутивного андростанового рецептора (CAR) в условиях моделирования экзогенного и эндогенного окислительного стресса *in vitro* / Ю.В. Абаленихина, П.Д. Ерохина, **А.А. Сеидкулиева** – Текст: непосредственный // *Материалы XXVII Всероссийской конф. молодых учёных с междунар. участием.* - СПб, 2021. – С. 201-202.
5. Изменение количества прегнан-Х-рецептора в условиях эндогенного и экзогенного окислительного стресса *in vitro* / Абаленихина Ю.В, **Сеидкулиева А.А.**, Ерохина П.Д., Щулькин А.В. – Текст: непосредственный // *Сборник докладов VII Всероссийской науч. конф. молодых специалистов, аспирантов, ординаторов «Инновационные технологии в медицине: взгляд молодого специалиста».* - Рязань, 2021. - С.93-94.
6. **Индукция конститутивного андростанового рецептора при развитии окислительного стресса / А.В. Щулькин, Ю.В. Абаленихина, А.А. Сеидкулиева [и др.] – Текст: непосредственный // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2021. – Т.171, №5. – С.588-591. – (Соавт.: А. Н. Рябков, Е. Н. Якушева)**
7. Моделирование нитрозативного стресса на клетках линии Caco-2 / Е.А. Судакова, Ю.В. Абаленихина, **А.А. Сеидкулиева**, А.В. Щулькин – Текст: непосредственный // *Инновационные технологии в медицине: взгляд молодого специалиста: сборник докладов VII Всероссийской науч. конф. молодых специалистов, аспирантов, ординаторов.* – Рязань, 2021. – С.91-93.
8. Роль конститутивного андростанового рецептора в защите клетки при индукции окислительного стресса пероксидом водорода / Ю.В. Абаленихина, П. Д. Ерохина, **А. А. Сеидкулиева** [и др.] – Текст: непосредственный // *«Рецепторы и внутриклеточная сигнализация», Сборник статей.* - Пушкино, 2021. - С.161-165.
9. **Функционирование прегнан Х рецептора в условиях нитрозативного стресса / Абаленихина Ю.В., Судакова Е.А., Сеидкулиева А.А. [и др.] – Текст: непосредственный // Биомедицинская химия. – 2021. – Т.67, №5. – 394-401 – (Соавт.: А.В. Щулькин, Е.Н. Якушева).**
10. **Функционирование прегнан Х рецептора в условиях окислительного стресса / Абаленихина Ю.В., Судакова Е.А., А. А. Слепнев, Сеидкулиева А.А. [и др.] – Текст: непосредственный // Биомедицинская химия. – 2021. – Т.39, №1. – С. 1-9. – (Соавт.: П. Д. Ерохина, А.В. Щулькин, Е.Н. Якушева).**
11. Влияние донора оксида азота S-нитрозоглутатиона на экспрессию конститутивного андростанового рецептора / Ю.В. Абаленихина, Е.А. Судакова, **А.А. Сеидкулиева** [и др.] – Текст: непосредственный // *Журнал эволюционной биохимии и физиологии.* – 2022. – Т. 58, № 5. – С. 410-420. – (Соавт.: А.В. Щулькин, Е.Н. Якушева).
12. Влияние нитрозоглутатиона на активность белка-транспортера Р-гликопротеина / Е.А. Судакова, Ю.В. Абаленихина, **А.А. Сеидкулиева**, А.В. Щулькин – Текст: непосредственный

// Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье: материалы XXV Междунар. мед. – биол. конф. молодых исследователей. – СПб, 2022. – Т. 25. – С. 436-437.

13. Влияние окислительного и нитрозативного стресса на функционирование прегнан X рецептора / **А.А. Сеидкулиева**, С. О. Ганина, А.В. Щулькин – Текст: непосредственный // Сборник тезисов 25-ой Пушкинской школы-конф. молодых ученых с междунар. участием «Биология – наука XXI века». – Пушкино: ФИЦ ПНЦБИ РАН, 2022. – С. 236.

14. Регуляция конститутивного андростанового рецептора в клетках линии Сасо-2 при моделировании окислительного стресса in vitro / Ю. В. Абаленихина, А. В. Щулькин, А. А. Сеидкулиева [и др.] – Текст: непосредственный // Биомедицинская химия. – 2022. – Т.68, вып. 4. – С. 297-301. – (Соавт.: С. К. Правкин, Е.Н. Якушева).

15. Функционирование конститутивного андростанового рецептора в условиях нитрозативного стресса / Е.А. Судакова, **А.А. Сеидкулиева**, А.В. Щулькин [и др.] – Текст : непосредственный // Инновационные технологии в медицине: взгляд молодого специалиста: материалы VII Всероссийской научной конф. молодых специалистов, аспирантов, ординаторов. – Рязань, 2022. – (Соавт.: Ю.В. Абаленихина, Е.Н. Якушева).

16. Экспрессия конститутивного андростанового рецептора под влиянием донора оксида азота S-нитрозоглутатиона / **А.А. Сеидкулиева**, Ю.В. Абаленихина, Е.Д. Рокунов – Текст: непосредственный // Сборник тезисов 84-й науч.-практ. конф. с междунар. участием «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины–2023». – СПб., 2023. – С. 158.

17. Влияние окислительного и нитрозативного стресса на конститутивный андростановый рецептор / **А.А. Сеидкулиева**, Ю.В. Абаленихина, Е.Д. Рокунов, А.В. Щулькин. – Текст: непосредственный // Сборник тезисов 26-й Пушкинской школы-конф. молодых ученых с междунар. участием «Биология – наука XXI века». – Пушкино: ФИЦ ПНЦБИ РАН, 2023. – С. 254.

18. Патент №2755507 Российская Федерация, МПК C12N 1/00(2006.01). Способ повышения количества конститутивного андростанового рецептора: № 2021105606: заявл. 04.03.2021: опубл. 16.09.2021 / Щулькин А.В., Абаленихина Ю.В., Ерохина П.Д., **Сеидкулиева А. А.** [и др.]; Патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU). – Бюл. № 26. – Текст: непосредственный.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АФА – активные формы азота	CYP2A5 – изофермент цитохрома P-450 2A5
АФК – активные формы кислорода	GAPDH – глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа
МДА – малоновый диальдегид	GSNO – S-нитрозоглутатион
НС – нитрозативный стресс	H ₂ O ₂ – пероксид водорода
ОС – окислительный стресс	MDR1 – белок множественной лекарственной устойчивости 1, Р-гликопротеин
ПОЛ – перекисное окисление липидов	MRP2 – белок 2, ассоциированный с множественной лекарственной устойчивостью
рГЦ – растворимая гуанилатциклаза	NO – оксид азота II
цГМФ – циклический гуанозинмонофосфат	NOS – NO-синтаза
УДФ – уридиндифосфат	Nrf2 – ядерный фактор эритроидного происхождения-2
АЕМ1 – ингибитор Nrf2 – N-(1,3-бензодиоксол-5-илметил)-5-(4-фторфенил)-тиено[2,3-d]пиримидин-4-амин	ODQ – ингибитор растворимой гуанилатциклазы – 1H-[1,2,4]оксадиазоло-[4,3-a]хиноксалин-1-ОН
ARE – элемент антиоксидантного ответа	PXR – прегнан X рецептор
CAR – конститутивный андростановый рецептор	
CINPA1 – 5-[(Диэтиламино)ацетил]-10,11-дигидро-5H-добензо[b,f]азепин-3-ил]этиловый эфир карбаминовой кислоты/карбаминовой кислоты	