

**Заключение диссертационного совета 21.2.060.02,
созданного на базе
федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Рязанский государственный медицинский
университет имени академика И.П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
по диссертации на соискание ученой степени доктора наук**

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 26 мая 2023 г. № 68

О присуждении Абаленихиной Юлии Владимировне, гражданке Российской Федерации, ученой степени доктора медицинских наук.

Диссертация «Регуляция функционирования Р-гликопротеина в условиях экзогенного и эндогенного окислительного стресса *in vitro*» по специальности 1.5.4. Биохимия (медицинские науки) принята к защите 20 февраля 2023 года (протокол заседания № 63) диссертационным советом 21.2.060.02, созданным на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (390026, г. Рязань, ул. Высоковольтная, д. 9; приказ Минобрнауки России о создании диссертационного совета № 1142/нк от 23.09.2015).

Соискатель Абаленихина Юлия Владимировна, 22 ноября 1988 года рождения.

В 2011 году окончила с отличием Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Рязанский государственный университет имени С.А. Есенина» по специальности «Биология с дополнительной специальностью».

Диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук на тему «Окислительная модификация белков и лизосомальный цистеиновый протеолиз иммунокомпетентных органов крыс в условиях

модулирования синтеза оксида азота» по специальности «Биохимия» защитила в 2015 году в диссертационном совете, созданном на базе Научно-исследовательского института питания.

Работает на кафедре биологической химии с курсом клинической лабораторной диагностики ФДПО федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации с 2011 года по 2019 год в должности ассистента, с 2019 года по настоящее время – в должности доцента.

Диссертация выполнена на кафедре биологической химии с курсом клинической лабораторной диагностики ФДПО федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор Якушева Елена Николаевна, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармакологии, заведующий кафедрой.

Официальные оппоненты:

Давыдов Вадим Вячеславович, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра биохимии и молекулярной биологии Института фармации и медицинской химии, профессор кафедры;

Штиль Александр Альбертович, доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства

здравоохранения Российской Федерации, лаборатория механизмов гибели опухолевых клеток НИИ канцерогенеза, заведующий лабораторией;

Синицкий Антон Иванович, доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра Биохимии имени Р.И. Лифшица, заведующий кафедрой, центральная научно-исследовательской лаборатория, ведущий научный сотрудник

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), г. Москва, в своем положительном отзыве, подписанном Глуховым Александром Ивановичем, доктором биологических наук, профессором, заведующим кафедрой биологической химии, указала, что диссертационная работа Абаленихиной Юлии Владимировны является завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена важная научная проблема изучения механизмов регуляции, функционирования и роли Р-гликопротеина в условиях моделирования окислительного стресса, что вносит значительный вклад в развитие биохимии.

Соискатель имеет 130 опубликованных научных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 48 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 16 работ, 13 из которых в журналах, входящих в международную цитатно-аналитическую базу данных Scopus, получено 3 патента РФ на изобретение, внедрено 4 рационализаторских предложения.

В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных работах. Общий объем опубликованных работ 19,6 печатных листа и содержит 80% авторского вклада.

Наиболее значительные научные работы по теме диссертации:

1. Дозозависимое влияние пероксида водорода на уровень транскрипционного фактора Nrf2 *in vitro* / Ю.В. Абаленихина, А.В. Щулькин, П.Д. Ерохина, И.В. Черных, Е.Н. Якушева. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. - 2020. - Т. 23, № 10. - С. 12-17.

2. The Effect of Oxidative Stress on the Transport of the P-Glycoprotein Substrate through the Cell Monolayer / A.V. Shchulkin, Yu.V. Abalenikhina, Seidkulieva A.A., Chernykh I.V., Yakusheva E.N. // Biochemistry (Moscow), Supplement Series A: Membrane and Cell Biology. - 2021. - Vol. 15, No. 3, pp. 257–269. (Щулькин А.В., Абаленихина Ю.В., Сеидкулиева А.А., Черных И.В., Якушева Е.Н. Влияние окислительного стресса на транспорт субстрата Р-гликопротеина через клеточный монослой. Биологические мембраны. 2021. - Т. 38, № 4.- С. 292-305.)

3. Белок множественной лекарственной устойчивости Р-гликопротеин в условиях ингибирования синтеза глутатиона *in vitro* / Ю.В. Абаленихина, А.В. Щулькин, А.А. Сеидкулиева, М.О. Порошина, Е.А. Судакова, Е.Н. Якушева // Технологии живых систем. - 2021. - Т. 18, № 3. - С. 43-51.

4. The role of P-glycoprotein in decreasing cell membranes permeability during oxidative stress / A.V. Shchulkin, Yu.V. Abalenikhina, P.D. Erokhina, I.V. Chernykh, E. N. Yakusheva // Biochemistry (Moscow). – 2021. - Vol. 86, No. 2. - pp. 197-206 DOI: 10.1134/S0006297921020085 (Роль Р-гликопротеина в ограничении проницаемости клеточных мембран при окислительном стрессе / А.В. Щулькин, Ю.В. Абаленихина, И.В. Черных, П.Д. Ерохина, Е.Н. Якушева // Биохимия. - 2021. - Т. 86, № 2. - С. 236-247.).

5. Induction of the of the constitutive androstane receptor during of the development of oxidative stress/ A.V. Shchulkin, Yu.V. Abalenikhina, A.A. Seidkulieva, A.N. Ryabkov, E.N. Yakusheva // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2021. - Vol. 171, No. 5. – pp. 615-618. (Индукция конститутивного андростанового рецептора при развитии окислительного стресса / А.В. Щулькин, Ю.В. Абаленихина, А.А. Сеидкулиева, Рябков А.Н., Якушева Е.Н. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2021. - Т. 171, № 5. - С. 588-591).

6. Functioning of the pregnan X receptor under oxidative stress / Y.V. Abalenikhina, E.A. Sudakova, A.A. Slepnev, A.A. Seidkulieva, P.D. Erokhina, A.V. Shchulkin, E.N. Yakusheva // Biochemistry (Moscow) Supplement. Series A: Membrane and Cell Biology. 2022. Т. 16. № 1. С. 21-28. (Функционирование прегнан X рецептора в условиях окислительного стресса / Ю.В. Абаленихина, Е.А. Судакова, А.А. Слепнев, А.А. Сеидкулиева, П.Д. Ерохина, А.В. Щулькин, Е.Н. Якушева // Биологические мембраны. – 2022. – Т.39, № 2. – С. 107-115.).

7. Regulation and role of hypoxia-induced factor 1 α (HIF-1 α) under conditions of endogenous oxidative stress *in vitro* / Yu. V. Abalenikhina, P.Yu. Myl'nikov, A. V. Shchul'kin, I. V. Chernykh, and E. N. Yakusheva // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2022. - Vol. 173, No. 3 – С. 312-316. (Абаленихина Ю.В., Мыльников П.Ю., Щулькин А.В., Черных И.В., Якушева Е.Н. Регуляция и роль фактора, индуцируемого гипоксией 1-альфа (HIF-1 α), в условиях эндогенного окислительного стресса *in vitro* // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2022. - Т. 173, № 3. - С. 301-306.).

8. Functioning of the P-glycoprotein membrane transport protein under conditions of the inhibition of glutathione synthesis / Y.V. Abalenikhina, P.D. Erokhina, P.Y. Mylnikov, A.V. Shchulkin, E.N. Yakusheva // Applied Biochemistry and Microbiology. - 2022. - Vol. 58, № 3. - С. 232-242. (Функционирование мембранного белка-транспортера Р-гликопротеина в условиях ингибирования синтеза глутатиона / Ю.В. Абаленихина, П.Д. Ерохина, П.Ю. Мыльников, А.В. Щулькин, Е.Н. Якушева // Прикладная биохимия и микробиология. - 2022. - Т. 58, № 3. - С. 232-243.).

9. Разработка и валидация методики количественного определения малонового диальдегида методом ВЭЖХ-МС/МС / П.Ю. Мыльников, А.В. Щулькин, Ю.В. Абаленихина, Е.Н. Якушева // Клиническая лабораторная диагностика. - 2022. - Т. 67, № 7. - С. 369-373.

10. Регуляция конститутивного андростанового рецептора в клетках линии Сасо-2 при моделировании окислительного стресса *in vitro* / Ю.В. Абаленихина, А.В. Щулькин, А.А. Сеидкулиева, С.К. Правкин, Е.Н. Якушева// Биомедицинская химия. – 2022. – Т. 68, № 4. - С. 297-301.

11. Внутриклеточная локализация и функция ядерного фактора эритроидного происхождения 2 (Nrf2) в условиях моделирования окислительного стресса *in vitro* / Ю. В.Абаленихина, П. Д. Ерохина, А. А. Сеидкулиева, О. А. Завьялова, А. В. Щулькин, Е. Н. Якушева // Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. – 2022. – Т. 30, № 3. – С. 295 – 304.

12. Ингибирующее действие DL-бутионинсульфоксимины на активность Р-гликопротеина *in vitro* / Абаленихина Ю.В., Мыльников П.Ю., Щулькин А.В., Якушева Е.Н. // Казанский медицинский журнал. – 2022. – Т.103, № 5. – С. 780-787.

13. Mechanisms of P-Glycoprotein Regulation Under Exogenous and Endogenous Oxidative Stress *In Vitro*. / Yu. V. Abalenikhina, A. V. Shchulkin, P. Yu. Mylnikov, E. D. Rokunov, E. N. Yakusheva // Acta naturae. – 2022. - Vol. 14, № 3 (54). – С. 38-47. (Механизмы регуляции Р-гликопротеина в условиях экзогенного и эндогенного окислительного стресса *in vitro* / Ю. В. Абаленихина, А. В. Щулькин, П. Ю. Мыльников, Е. Д. Рокунов, Е. Н. Якушева // Acta naturae. – 2022. - Том 14 № 3 (54). С. 69-78.)

14. Оценка принадлежности малонового диальдегида к модуляторам и субстратам белка-транспортера Р-гликопротеина / А.В. Щулькин, Ю.В. Абаленихина, П.Ю. Мыльников, И.В. Черных, Е.Н. Якушева// Доклады Российской Академии наук. Науки о жизни. – 2022. – Т. 507. – С. 465-474. (Assessment of Malondialdehyde Belonging to Modulators and Substrates of the P-Glycoprotein Transporter Protein / A.V. Shchulkin, Yu.V. Abalenikhina, P.Y. Mylnikov, I.V. Chernykha, E. N. Yakusheva // Doklady Biochemistry and Biophysics, 2022, Vol. 507, pp. 247–255.)

15. Моделирование и динамика развития экзогенного и эндогенного окислительного стресса / Ю.В. Абаленихина, С.К. Правкин, А.В. Щулькин, Е.Д. Рокунов, Д.С. Немтинов, Е.П. Васильева, Е.Н. Якушева // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2022. – Т. 25, № 12. – С. 10-17.

16. Клетки линии Сасо-2 как модель для изучения абсорбции

лекарственных веществ / Шулькин А.В., Транова Ю.С., Абаленихина Ю.В., Есенина А.С., Слепнев А.А., Якушева Е.Н. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2022. – Т.10, № 206. – С. 63-69.

17. Шулькин А.В., Абаленихина Ю.В., Ерохина П.Д., Сеидкулиева А.А., Якушева Е.Н., Попова Н.М. Способ повышения количества конститутивного андростанового рецептора. Патент на изобретение 2755507 С1, 16.09.2021. Заявка № 2021105606 от 04.03.2021.

18. Абаленихина Ю.В., Судакова Е.А., Слепнев А.А., Шулькин А.В., Якушева Е.Н., Попова Н.М. Способ повышения количества прегнан Х рецептора. Патент на изобретение 2762853 от 23.12.2021.

19. Абаленихина Ю.В., Ерохина П.Д., Мыльников П.Ю., Шулькин А.В., Якушева Е.Н., Попова Н.М. Способ ингибирования гликопротеина-R в эксперименте *in vitro*. Патент на изобретение 2779177 от 05.09.2022.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи» за подписью главного научного сотрудника лаборатории пищевой токсикологии, доктора биологических наук Гмошинского Ивана Всеволодовича;

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «МИРЭА – Российский технологический университет» за подписью профессора кафедры аналитической химии им. И.П. Алимарина Института тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова, доктора медицинских наук, профессора Бородулина Владимира Борисовича;

Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» за подписью главного научного сотрудника, руководителя Лаборатории гликобиологии, доктора биологических наук Григорьевой Эльвиры Витальевны;

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Астраханский государственный

медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации за подписью заведующего кафедрой биологической химии и клинической лабораторной диагностики, доктора медицинских наук, профессора Никулиной Дины Максимовны.

Отзывы носят положительный характер, критических замечаний не содержат.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их широко известными достижениями в области изучения окислительного стресса и свободно-радикальной патологии, механизмов множественной лекарственной устойчивости, наличием научных публикаций в области проведенного диссертационного исследования и их соответствием требованиям Положения о присуждении ученых степеней, а также их согласием.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

доказаны механизмы регуляции Pgp в условиях окислительного стресса; впервые описана цитопротекторная роль белка-транспортера в условиях окислительного стресса.

разработан и валидирован способ количественного определения МДА методом ВЭЖХ МС/МС;

доказано, что DL-бутионинсульфоксимин является прямым ингибитором Pgp, а малоновый диальдегид транспортируется Pgp;

разработаны способы ингибирования Р-гликопротеина в эксперименте *in vitro*, повышения количества конститутивного андростанового рецептора, повышения количества прегнан Х рецептора;

предложены способы количественной оценки глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (GAPDH), конститутивного андростанового рецептора, прегнан Х рецептора, Р-гликопротеина методом вестерн-блот в гомогенате тканей и лизате клеток;

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказано возрастание активности и количества Pgp в условиях экзогенного и эндогенного окислительного стресса при умеренном воздействии

(эустресс), и снижение при выраженном и более продолжительном стрессе (дистресс);

установлены различия в регуляции белка-транспортера при моделировании экзогенного и эндогенного окислительного стресса: при воздействии H_2O_2 (24 и 72 ч) доминирующая роль принадлежит сигнальному пути Nrf2-Keap1, HIF1 α принимает участие в регуляции Pgp при кратковременном воздействии прооксиданта, а CAR – при длительном (72 ч), PXR не вносит существенный вклад; при воздействии DL-бутионинсульфоксимины в индукции Pgp участвуют Nrf2, HIF1 α , CAR и PXR.

изложены сложные молекулярные механизмы регуляции Pgp, основанные на сигнальной функции продуктов пероксидации (малоновый диальдегид), а также прямом и опосредованном влиянии транскрипционных факторов, учитывая их взаимодействие и взаимозаменяемость;

изучена адаптивная функция Pgp в условиях ОС, направленная на сохранение жизнеспособности клеток и поддержание их метаболизма;

проведен анализ на принадлежность к субстратам Pgp малонового диальдегида;

установлено бимодальное действие DL-бутионинсульфоксимины – прямое действие как ингибитора Pgp, и опосредованное влияние посредством развития окислительного стресса и активации транскрипционных факторов.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

представлена классическая модельная система абсорбции веществ в тонком кишечнике - клетки линии Caco-2;

определены условия повышения абсорбции веществ-субстратов Pgp в тонком кишечнике при развитии заболеваний, сопровождающихся окислительным стрессом, позволяющие прогнозировать побочные эффекты фармакотерапии;

разработаны рекомендации по возможному использованию DL-бутионинсульфоксимины для подавления активности Pgp в ткани опухоли, с целью снижения множественной лекарственной устойчивости, опосредованной

гиперфункцией белка-транспортера и повышению эффективности химиотерапии.

Основные положения диссертационной работы внедрены в учебный процесс при обучении студентов на кафедрах биологической химии с курсом клинической лабораторной диагностики ФДПО и фармакологии, а также при выполнении научно-исследовательских работ на базе центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:
теория согласуется с опубликованными данными по теме диссертации;
идея базируется на анализе практики, обобщении передового опыта;
использованы сравнения авторских данных, полученных ранее по рассматриваемой тематике;

объем исследования достаточен для получения детальной и объективной информации, необходимой для обоснования выводов и практических рекомендаций; использованы современные методики сбора и обработки исходной информации; выводы и практические рекомендации аргументированы и логически вытекают из полученных в ходе исследования результатов.

Личное участие автора заключалось в анализе современной литературы по изучаемой проблеме, в планировании и организации исследования, постановке задач, разработке дизайна, методической поддержке и проведении исследований, статистической обработке и анализе полученных результатов, формулировке научных положений и выводов. В качестве соавтора участвовала в разработке и валидации методики ВЭЖХ МС/МС. Самостоятельно участвовала в культивировании клеток линии Сасо-2, разработке методов вестерн-блот анализа, в сборе первичной информации по исследованию, во внесении полученной информации в электронные базы данных. При обработке полученных результатов использовала новые методологические подходы. На основании полученных данных автором сделаны соответствующие выводы и даны практические рекомендации. Опубликованные научные работы подтверждают личное участие автора в выполнении исследования.

В ходе защиты диссертации не было высказано критических замечаний.

Соискатель Абаленихина Ю.В. развернуто и обоснованно ответила на все задаваемые в ходе заседания вопросы.

На заседании 26 мая 2023 года диссертационный совет принял решение за решение научной проблемы по оценке функционирования мембранного белка-транспортера Pgp и роли транскрипционных факторов Nrf2, HIF1 α , CAR и PXR в его регуляции в условиях экзогенного и эндогенного окислительного стресса *in vitro*, которое можно квалифицировать как научное достижение, имеющее важное медико-социальное значение, присудить Абаленихиной Ю.В. ученую степень доктора медицинских наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 12 человек, их них 4 доктора наук по научной специальности 1.5.4. Биохимия рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 17 человек, входящих в состав совета, дополнительно введенных членов совета нет, проголосовали: за 12, против нет, недействительных бюллетеней нет.

Председательствующий на заседании
диссертационного совета,
д.м.н., профессор



Жаднов Владимир Алексеевич

Ученый секретарь
диссертационного совета
к.м.н., доцент

Короткова Наталья Васильевна

26.05.2023