

В диссертационный совет ПДС 0300.025  
при Федеральном государственном автономном  
образовательном учреждении высшего образования  
«Российский университет дружбы народов  
имени Патриса Лумумбы»  
117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.6

### **ОТЗЫВ**

официального оппонента, д.б.н., с.н.с., зав. кафедрой биохимии,  
биотехнологии и фармакологии Института фундаментальной медицины и  
биологии ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный  
университет»

Киямовой Рамзии Галлямовны

на диссертационную работу Хасан Асиль Али Шехадех

«Влияние куркумина и кверцетина на тиоредоксин-зависимую систему и  
устойчивость опухолевых клеток к цисплатину», представленную на  
соискание ученой степени кандидата биологических наук по  
специальностям 1.5.4. Биохимия, 3.1.6. Онкология, лучевая терапия

#### **Актуальность темы исследования**

Важной проблемой химиотерапии является развитие лекарственной устойчивости опухолевых клеток, формирование которой имеет многофакторный характер, включая подавление поступления противоопухолевого препарата в клетку за счёт усиления систем обратного транспорта, активация процессов репарации ДНК и детоксикации лекарственных средств и их активных метаболитов, гиперэкспрессия и/или мутации молекул-мишеней цитостатиков, подавление механизмов клеточной гибели. В настоящее время все большее число данных свидетельствует о важном значении редокс-зависимых процессов в формировании лекарственной устойчивости опухоли. Весомую роль в клеточной антиоксидантной защите играет тиоредоксин(Тгх)-зависимая система, участвующая в редокс-зависимой регуляции и способная посредством контроля тиол-дисульфидного обмена активировать транскрипцию генов антиоксидантных ферментов и ингибировать редокс-зависимые пути

активации апоптоза. Исследование механизмов редокс-зависимой регуляции лекарственной устойчивости опухолевых клеток и их использования для поиска путей её «обращения» являются перспективными направлениями в противоопухолевой терапии. В этой связи работа Хасан Асиль Али Шехадек, посвященная исследованию влияния полифенолов – куркумина (CU) и кверцетина на тиоредоксин-зависимую систему и устойчивость опухолевых клеток к известному противоопухолевому препарату цисплатину, несомненно, является актуальной.

**Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Целью исследования явилось изучение влияния полифенолов (куркумина и кверцетина) на тиоредоксин-зависимую систему и устойчивость опухолевых клеток к цисплатину. Для её реализации автором поставлены 4 задачи.

Достоверность полученных результатов обусловлена использованием широкого арсенала современных методов биохимии и клеточной биологии, включая ПЦР в режиме реального времени, проточную цитофлуориметрию, МТТ тест оценки цитотоксичности, метод вестерн-блоттинга, а также применением адекватных методов статистического анализа.

Автором впервые показано, что «обращение» резистентности клеток аденокарциномы SKOV-3 к цисплатину, вызываемое полифенолами – куркумином и кверцетином, связано с подавлением экспрессии генов ферментов Trx/TrxR системы – изоформ тиоредоксина (*TRX1*, *TRX2*) и тиоредоксинредуктазы (*TRXDR1*, *TRXDR2*), контролирующих клеточный редокс статус. Впервые исследован редокс-зависимый механизм модуляции устойчивости клеток аденокарциномы SKOV-3 к цисплатину и показано, что комбинация кверцетина и цисплатина усиливает генерацию активных форм кислорода в резистентных клетках SKOV-3/CDDP и инициирует митохондриальный апоптоз путем активации расщепления каспаз 9, 7, 3 и

PARP и подавления фосфорилирования белков сигнального пути mTOR/STAT3.

Автор демонстрирует, что формирование устойчивости к цисплатину у клеток аденокарциномы яичника SKOV-3 сопровождается повышением экспрессии генов ферментов системы Tgx/TgxR/Pgx, ключевых антиоксидантных ферментов (*SOD1*, *SOD2*, *GPX1*, *HO1*, *CAT*) и транскрипционного фактора Nrf2 (*NFE2L2*), контролирующего экспрессию указанных ферментов, а также приводит к усилению сигнального пути PI3K/Akt/mTOR. На то, что этот эффект является важной составной частью в редокс-зависимых механизмах выживания опухолевых клеток в ответ на действие противоопухолевых препаратов, указывает однонаправленный характер изменения экспрессии генов Tgx-зависимой системы и изоформ Pgx, сопряженная функциональная активность которых регулирует внутриклеточный уровень  $H_2O_2$ , а также совпадение роста экспрессии генов Tgx-зависимой системы со скоординированным повышением экспрессии генов ключевых антиоксидантных ферментов и киназ сигнального пути PI3K/AKT/mTOR, активность которого зависит от уровня АФК, и который является ключевым сигнальным путем, определяющим рост, пролиферацию и выживание клеток.

Действие куркумина и кверцетина вызывает резкое снижение экспрессии генов *TRX1*, *TRX2*, *TRXR1*, *TRXR2*, сопряженное с подавлением экспрессии генов изоформ Pgx и генов ключевых антиоксидантных ферментов. Наблюдаемая депрессия антиоксидантной системы в значительной степени может объясняться снижением экспрессии гена транскрипционного фактора Nrf2, контролирующего экспрессию генов большинства антиоксидантных ферментов и экспрессия которого может регулироваться Tgx-зависимой системой.

При оценке влияния кверцетина на резистентные к цисплатину клетки SKOV-3/CDDP автором разработаны две схемы - синергетическое действие и эффект прединкубации). Полученные результаты позволили автору

установить, что клетки SKOV-3/CDDP не могли войти в фазу суб-G1 даже после длительной инкубации с использованием синергетического подхода, в то время как клетки эффективно накапливались в суб-G1 при использовании стратегии преинкубации с кверцетином. В отличие от сочетанного действия кверцетином и цисплатина, преинкубация с кверцетином эффективно запускала генерацию АФК в резистентных клетках при последующем введении в инкубационную среду цисплатина. Автор успешно доказывает, что данный прооксидантный эффект достигается путем подавления антиоксидантной системы Tgх/TgхR и демонстрирует далее, что преинкубация клеток SKOV-3/CDDP с QU, ингибируя систему Tgх/TgхR, вызывает подавление сигнального пути mTOR/STAT3, что приводит к активации митохондриального апоптотического пути (расщепленные каспазы 9, 7 и 3 и расщепленный PARP). Это направление работы предоставляет дополнительные новые данные о механизме, с помощью которого преинкубация с кверцетином «возвращает» чувствительность резистентных клеток SKOV-3/CDDP к цисплатину. Оценка цитотоксичности с помощью МТТ-теста также демонстрирует, что преинкубация с куркумином повышает чувствительность резистентных клеток SKOV-3/CDDP к CDDP.

#### **Ценность для науки и практики результатов работы**

В диссертационной работе Хасан Асиль Али Шехадех на основании экспериментальных исследований получены новые данные, которые расширяют фундаментальные представления о роли Tgх/TgхR системы в редокс-зависимых механизмах формирования лекарственной устойчивости опухолевых клеток. Результаты о модулирующем действии необратимых ингибиторов TgхR – куркумина и кверцетина на антиоксидантный статус и сигнальные пути PI3K/AKT/mTOR, mTOR/STAT3 и роли в этом процессе Tgх/TgхR системы могут быть использованы при последующем изучении значения редокс-зависимой регуляции в механизмах гибели опухолевых клеток. Установленная эффективность куркумина и кверцетина в эффекте

«обращения» лекарственной устойчивости аденокарциномы яичника SKOV-3 перспективна для использования при разработке новых схем химиотерапии.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Выносимые на защиту 4 основополагающие положения и соответствующие им выводы логично и обоснованно вытекают из результатов диссертационного исследования и свидетельствуют о выполнении поставленных целей и задач. Высокий уровень методических подходов и использование современных методов исследования, грамотный выбор контролей и адекватный статистический анализ подтверждают достоверность и надежность результатов работы. Обоснования экспериментальных подходов и обсуждение полученных результатов лишены спекулятивности, логичны и убедительны.

### **Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати**

По теме диссертации опубликовано 13 научных печатных работ, среди которых 5 статей в рецензируемых журналах, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus, и тезисы 8 докладов. Все результаты, представленные в диссертации, отражены в опубликованных работах.

### **Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации**

Диссертация построена по общепринятой схеме, она состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы», глав с описанием полученных результатов и их обсуждения, заключения, выводов, списка литературы, включающего 326 источников. Диссертационная работа изложена на 160 страницах, иллюстрирована 29 рисунками и 6 таблицами.

Диссертация и автореферат структурированы и оформлены согласно требованиям нормативных документов. Содержание автореферата в полной мере отражает основные аспекты диссертационной работы. Цель, задачи,

положения, выносимые на защиту и выводы, приведённые в автореферате, соответствуют таковым в диссертации.

### **Замечания по работе**

Принципиальных замечаний нет, но следует отметить определенную перегруженность подписей к некоторым рисункам (рис. 216, 18, 22) в диссертации: условия инкубации и статистического анализа можно было бы не указывать, т.к. они описаны в методах. Текст, написан хорошо, однако, в тексте встречаются опечатки, несогласованные предложения и некоторые ошибки.

Однако все указанные замечания никак не умаляют значимости диссертационного исследования.

Хотелось бы обсудить несколько вопросов:

- В своей работе Вы оценивали влияние кверцетина на сигнальные пути PI3K/AKT/mTOR и mTOR/STAT3. Как связано подавление их активности с изменением уровня АФК?

- За счет каких механизмов подавление системы Trx/TrxR/Ptx может приводить к росту АФК?

- Известно, что кверцетин обладает антиоксидантными свойствами. Следует ли рассматривать полученные Вами результаты как определенную рекомендацию при оценке баланса его антиоксидантных-прооксидантных свойств?

- Линия SKOV3/CDDP была отобрана на устойчивость к цисплатину, однако чаще рак яичника уже изначально нечувствителен к препаратам платины. Характерны ли отмеченные для этой линии изменения для более резистентных линий?

### **Заключение**

Диссертационное исследование Хасан Асиль Али Шехадех «Влияние куркумина и кверцетина на тиоредоксин-зависимую систему и

устойчивость опухолевых клеток к цисплатину», является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится новое решение научной задачи, связанной с изучением механизма действия полифенолов (куркумина и кверцетина) на тиоредоксин-зависимую систему и устойчивость опухолевых клеток, имеющей важное значение как для фундаментальной, так и прикладной биохимии и онкологии.

Работа соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, согласно п.2.2 раздела II Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», утвержденного Ученым советом РУДН, протокол № УС-12 от 03.07.2023г., а её автор, Хасан Асиль Али Шехадех, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.4. Биохимия, 3.1.6. Онкология лучевая терапия.

Официальный оппонент:

зав. кафедрой биохимии, биотехнологии и фармакологии Института фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»  
доктор биологических наук ((03.01.03 – Молекулярная биология),  
старший научный сотрудник

Киямова Рамзия Галлямовна

Подпись д.б.н., с.н.с. Киямовой Р.Г. заверяю:

ФИО

Гербовая печать

19.02.2024



Ведущий специалист по кадровой работе А.А. Лукина