

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию С.С. Мичуриной «Регуляция поглощения и утилизации глюкозы под действием интерлейкина-4 в адипоцитах», представляемую на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. – Биохимия.

Актуальность избранной темы

Ожирение и сахарный диабет 2 типа – это социально значимые заболевания, являющимися одной из ключевых причин развития патологий сердечно-сосудистой системы и онкологических заболеваний, а также смертности. В основе ожирения и сахарного диабета 2 типа лежит развитие инсулинерезистентности – нарушение способности тканей (главным образом, печени, скелетной мускулатуры и жировой ткани) поглощать глюкозу под действием инсулина, а также нарушения в утилизации, поглощённой глюкозы. Важно отметить, что механизмы, лежащие в основе инсулинерезистентности очень многообразны и сложны; поэтому, несмотря на длительную историю изучения, этот вопрос до сих пор остается открытым. На сегодняшний день не вызывает сомнений, что хронический воспалительный процесс, наблюдаемый в жировой ткани при ожирении и сопутствующих заболеваниях, является одним из триггеров развития инсулинерезистентности. Поэтому исследование возможностей снижения хронического воспаления является одним из «горячих» направлений в этой области. Диссертационная работа С.С. Мичуриной посвящена именно этому вопросу: исследованию регуляции поглощения и утилизации глюкозы адипоцитами под действием антивоспалительного цитокина интерлейкин 4 (ИЛ4). Актуальность работы, представленной к защите, не вызывает сомнений.

Достоверность и новизна

Диссертационная работа изложена на 149 страницах, включает обзор литературы, методическую часть, результаты, их обсуждение и заключение; результаты иллюстрированы 19 рисунками и одной таблицей, в работе цитируются 333 литературных источника. Обзор литературы хорошо написан; в нем подробно описаны классические и современные данные о регуляции метаболизма глюкозы и липидов в адипоцитах и о роли хронического воспаления жировой ткани в развитии метаболических нарушений. Обзор логично подводит к описанию исследований, изучавших эффекты подавления/активации про/противовоспалительных цитокинов и к постановке цели настоящей работы.

В диссертации подробно и аккуратно описаны организация и методика проведения экспериментов, используемые реагенты и подходы. В работе был использован широкий

набор классических молекулярно-биологических методов (включая радиоизотопные методы), методы микроскопии и оценки энергообеспечения клеток (анализатор Seahorse), а также методы генной инженерии. Помимо этого, был разработан метод, использующий анализ содержания изотопов углерода 14 в составе жирных кислот и триацилглицерола, разделенных с помощью тонкослойной хроматографии, для оценки скорости синтеза этих компонентов.

В разделах Результаты и Обсуждение результатов подробно описаны полученные данные, проведен их анализ и сопоставление с данными литературы. Согласно гипотезе, было показано, что ИЛ4 увеличивает потребление глюкозы в культуре зрелых адipoцитов. Автор провел комплексный анализ и выявил часть механизмов, лежащих в основе этого эффекта. Так, было показано что ИЛ4 стимулирует гликолиз, базальную и максимальную разобщенную скорость потребления кислорода. Последнее не связано с увеличением содержания митохондрий и регуляцией их динамики, а, по-видимому, вызвано регуляцией активности дыхательных комплексов. При этом ИЛ4 вызвал увеличение количества мелких липидных капель в адipoцитах. В совокупности, эти изменения позволили автору провесит параллель между эффектами ИЛ4 и метаболизмом бежевых адipoцитов.

Далее было показано, что ИЛ4-зависимое увеличение потребления глюкозы не зависит от STAT6 – потенциальный регулятор окислительного фосфорилирования, фосфорилирования IRS1 – сигнального белка проксимальной части канонического инсулинового каскада, регулирующего захват глюкозы, а также от содержания и транслокации глюкозного транспортера GLUT4.

Дальнейшие исследования показали, что ИЛ4 не влияет на липогенез, но модулирует липолиз, что, по-видимому, частично объясняет увеличение количества мелких фрагментированных липидных капель в адipoцитах. Причем последнее, не связано с активацией адipoцитарной триглицерид липазы и других ферментов липолиза, а коррелирует с содержанием белков-регуляторов слияния/фрагментации липидных капель.

На финальном этапе работы автором было показано, что ИЛ4-зависимая активация термогенеза не связана с каноническим механизмом – изменением экспрессии/активности разобщающего белка 1, а, по-видимому, регулируется активацией термогенного футильного цикла триацилглицерола.

Необходимо отметить, что в работе проведены комплексные исследования. Это позволили автору предложить схему, описывающую ИЛ4-зависимые механизмы активации поглощения и утилизации глюкозы в адipoцитах; это удачно обобщило основные результаты, описанные в работе и представленные в выводах.

Знакомство с работой вызвало несколько вопросов/замечаний, которые носят дискуссионный характер и не влияют на высокую оценку проведенного исследования.

- В работе использовано множество аббревиатур названий белков и генов. Для избегания путаницы, желательно использовать официальные символы и правила их написания для животных/человека и для генов/белков.

- В работе отмечено, что при оценке уровня фосфорилирования белков проводили нормировку на референсный белок или общее содержание исследуемого белка. Есть ли различия в данных иммуноблоттинга при различных способах нормировки (на рисунках не указано на что проводили нормирование)? Если нормировали на содержание исследуемого белка, то насколько корректно сопоставлять эти данные с другими результатами, например, по экспрессии GLUT4, который нормирован только на референсный белок?

- Почему при стимуляции клеток инсулином использовали концентрацию 100 нМ, которая на два порядка выше постпрандиальной концентрации инсулина *in vivo* (менее 1 нМ)?

- Ключевое наблюдение, сделанное в работе, – это ИЛ4-зависимое увеличение потребления кислорода клеткой в базальном состоянии (а также при максимальном разобщенном дыхании). Насколько эти изменения могут быть объяснены ИЛ4-зависимой активацией термогенеза за счет активации термогенного футильного цикла триацилглицерола? Предполагает ли автор наличие других механизмов, объясняющих это наблюдение?

- Использование ИЛ4 *in vivo* связано с рядом побочных эффектов, возникающих в других клетках/тканях, что накладывает потенциальные ограничения на использование этого цитокина для целевого воздействия на жировую ткань. Существуют ли эффективные подходы для решения этой проблемы (и для потенциального использования ИЛ4)?

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций

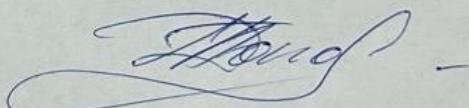
Объем проведенных экспериментов достаточен для получения статистически достоверных результатов; сформулированные выводы соответствуют полученным результатам. Обоснованность научных положений и выводов подтверждается публикацией результатов работы в восьми рецензируемых отечественных и международных научных журналах, а также их представлением на ряде конференций. Нужно отметить, что С.С. Мичурина является первым автором четырех статей, опубликованных в англоязычных международных журналах (включая журналы Q1) и посвященных теме диссертации; это свидетельствует о ее ключевом вкладе в диссертационную работу.

Заключение

Подытоживая, можно заключить, что поставленные в работе задачи решены полностью. Работа является современной, актуальной и вносит вклад в понимание молекулярных механизмов действия ИЛ4 на регуляцию метаболизма глюкозы в адипоцитах. Название и содержание диссертации по объекту и методам исследования полностью соответствуют специальности 1.5.4. – Биохимия. Диссертационное исследование С.С. Мичуриной «Регуляция поглощения и утилизации глюкозы под действием интерлейкина-4 в адипоцитах» является завершенным научным трудом и соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук (пп. 9 и 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (с последующими изменениями)), а ее автор заслуживает присвоения ему ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. – Биохимия.

Ведущий научный сотрудник-заведующий
лабораторией физиологии мышечной деятельности
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Государственного научного центра Российской Федерации
Института медико-биологических проблем
Российской академии наук,
профессор РАН, доктор биологических наук
по специальности 03.03.01 – «Физиология»

Попов Даниил Викторович



Адрес: 123007, Российская Федерация, г. Москва, Хорошевское шоссе, д. 76А
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Государственный научный центр Российской Федерации
Институт медико-биологических проблем
Российской академии наук
Контактный телефон: +7 499 195 6566
e-mail: danil-popov@imbp.ru, сайт: <http://www.imbp.ru/>

Подпись д.б.н. Попова Д.В. удостоверяю:

Ученый секретарь
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Государственного научного центра Российской Федерации
Института медико-биологических проблем
Российской академии наук, доктор биологических наук

Левинских М.А.
22 апреля 2024 г.

