

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ  
БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР  
ИМЕНИ В. А. АЛМАЗОВА»



197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2  
Тел/факс +7 (812) 702-37-30  
e-mail: fmrc@almazovcentre.ru  
ОГРН 1037804031011 ИНН 7802030429 КПП 781401001

24. 04. 2024 № 02-05-4886/24  
на № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

## «УТВЕРЖДАЮ»

Заместитель генерального директора  
по научной работе Федерального  
государственного бюджетного учреждения  
«Национальный медицинский  
исследовательский центр имени В.А.

Алмазова» Министерства здравоохранения  
Российской Федерации доктор медицинских  
наук, профессор, академик РАН

А.О. Конради

«24 апреля 2024 г.



## ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Институт экспериментальной медицины) на диссертационную работу Мичуриной Светланы Сергеевны на тему: «Регуляция поглощения и утилизации глюкозы под действием интерлейкина-4 в адипоцитах», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. - Биохимия.

### Актуальность темы рецензируемой работы

Изучение механизмов развития ожирения и сопутствующих метаболических патологий является одним из наиболее перспективных и развивающихся направлений исследований. Хроническое латентное воспаление в жировой ткани при ожирении может быть одной из причин нарушения системного энергетического метаболизма и возникновения инсулиновой резистентности, так как оно ассоциировано с высоким риском развития сахарного диабета 2 типа и сердечно-сосудистых заболеваний. Таким образом, воздействие на воспалительный статус жировой ткани открывает новые перспективы для разработки эффективных подходов к предотвращению и лечению ожирения и сопутствующих патологических процессов.

Диссертационная работа Мичуриной С.С. посвящена изучению механизмов действия противовоспалительного цитокина интерлейкина-4 (ИЛ-4) на метabolизм жировых клеток. Известно, что ИЛ-4 способен предотвращать увеличение массы тела, гипергликемию и инсулиновую резистентность в экспериментальной модели

высокожировой диеты, но точные механизмы наблюдаемых позитивных эффектов изучены недостаточно. Взаимодействие иммунных и метаболических реакций наблюдается во многих тканях и органах, но наиболее выражено в жировой ткани, так она характеризуется высокой инфильтрацией иммунными клетками, а активность ее метаболизма зависит от секреции про- и противовоспалительных сигнальных молекул. Именно поэтому понимание механизмов действия ИЛ-4 на адипоциты является востребованным, позволяет расширить понимание как патологических, так и защитных процессов, снижающих метаболическую перегрузку при ожирении. Таким образом, диссертационная работа Мичуриной С.С., направленная на исследование активации метаболизма глюкозы и триглицеридов в адипоцитах при стимуляции ИЛ-4, актуальна и обладает высокой научно-теоретической и практической значимостью.

### **Научная новизна исследования, полученных результатов и выводов, сформулированных в диссертации**

В рецензируемой работе впервые детально охарактеризовано влияние противовоспалительного цитокина ИЛ-4 на метаболизм глюкозы и триглицеридов в жировых клетках. Мичуриной С.С. впервые выявлено, что ИЛ-4 активирует поглощение глюкозы адипоцитами, а также ее дальнейшее окисление в ходе гликолиза и окислительного фосфорилирования. При этом, показано, что ИЛ-4 не повышает активность синтеза липидов из глюкозы, что подтверждает его катаболическое действие. Автор разработала и использовала новую методику радиоизотопного исследования метаболизма липидов, что позволило показать влияние ИЛ-4 на липолиз и синтез глицерол-3-фосфата и жирных кислот в составе триглицеридов по-отдельности и предположить роль данного цитокина в регуляции футильного триацилглицеридного цикла, вызывающего термогенез. В работе показано, что ИЛ-4 активирует диссиацию избыточной энергии в виде тепла. С помощью ингибиторного анализа выявлено, что одним из ключевых ферментов в активации термогенеза под действием ИЛ-4 является адипоцитарная триглицерид липаза, один из ключевых ферментов футильного триацилглицеридного цикла. Мичуриной С.С. также исследовала сигнальные механизмы, опосредующие влияние ИЛ-4 на адипоциты, и показала, что классический ИЛ-4-зависимый транскрипционный фактор STAT6 не является основным активатором метаболизма глюкозы и триглицеридов. Кроме того, доказано, что ИЛ-4 не осуществляет дополнительную стимуляцию инсулинового сигнального каскада и не активирует транслокацию транспортера глюкозы GLUT4 в плазматическую мембрану. Таким образом, на основании полученных данных впервые предложена и доказана гипотеза об активации неканонического механизма термогенеза под действием ИЛ-4 в адипоцитах и выявлен ключевой медиатор этого процесса в лице адипоцитарной триглицерид липазы.

## **Значимость полученных автором результатов для науки и практики**

Теоретическая значимость работы состоит в определении новых механизмов взаимодействия иммунитета и метаболизма. Автором доказано, что классический противовоспалительный фактор, секретируемый иммунными клетками, оказывает значительное влияние на энергетический метаболизм жировых клеток, активирует утилизацию глюкозы путем гликолиза и митохондриального окисления для снабжения энергией футильного термогенного триацилглицеридного цикла. Полученные в работе Мичуриной С.С. данные позволяют углубить имеющиеся представления о роли воспаления в регуляции термогенеза, а также подчеркивают значимость неканонических механизмов термогенеза, осуществляющихся без участия разобщающего белка внутренней мембранных митохондрий.

Результаты диссертационной работы имеют трансляционную значимость, так как открывают перспективы для разработки новых подходов к коррекции ожирения и гипергликемии с использование противовоспалительных цитокинов и активаторов неканонических механизмов термогенеза в жировой ткани.

## **Анализ материала и методов исследования**

Диссертационное исследование выполнено с применением современных методов биохимии, клеточной и молекулярной биологии. Исследование проводили на клетках культуры ЗТ3-L1, дифференцированных в адипоциты, которые широко используются для изучения биологии жировых клеток по всему миру. В ходе работы были использованы радиоизотопные методы анализа метаболизма с применением меченого неметаболизируемого аналога глюкозы, который позволил определить регуляцию поглощения глюкозы под действием ИЛ-4, а также  $^{14}\text{C}$ -меченой глюкозы, с помощью которой исследовали активность липогенеза и липолиза. Данные полученные в ходе изотопного анализа подтверждали с применением других биохимических и морфологических методов. Активация поглощения глюкозы была подтверждена при исследовании клеток на анализаторе метаболизма Seahorse, который позволил также показать стимуляцию окисления глюкозы и активности митохондрий. Увеличение активности липолиза и отсутствие влияния ИЛ-4 на липогенез также согласуется с данными морфологического анализа липидных капель. Показано, что воздействие ИЛ-4 приводит к фрагментации липидных капель, что, по данным литературы, ассоциировано с активацией липолиза и термогенеза. Для точной оценки влияния ИЛ-4 на термогенез был использован термочувствительный флуоресцентный зонд ERthermAC, который в комплексе с конфокальной микроскопией позволил определить повышение температуры клеток при индукции ИЛ-4, что свидетельствует об активации митохондрий и диссипации избыточной энергии окисления глюкозы в виде тепла.

Оценка механизмов действия ИЛ-4 в жировых клетках проводилась автором с использованием ингибиторного анализа, малых шпилечных РНК, подавляющих экспрессию транскрипционного фактора STAT6. Сигнальные механизмы были изучены методом иммуноблоттинга при детекции фосфорилированных форм белков

инсулинового сигнального каскада. В ходе работы был использован уникальный метод определения внутриклеточной локализации транспортера глюкозы GLUT4 с помощью генетической конструкции, кодирующей myc-GLUT4-mCherry, позволяющей оценить общее количество GLUT4 и транслокацию в плазматическую мембрану. Полученные методы позволили подробно охарактеризовать активацию предложенных сигнальных механизмов под действием ИЛ-4 в адипоцитах и достоверно показать, что метаболические эффекты данного цитокина опосредованы повышением ферментативной активности адипоцитарной триглицерид липазы. Соответствие методологии целям и задачам исследования, а также достоверность результатов исследования не вызывают сомнений, количество экспериментальных повторов достаточно для адекватного статистического анализа. Выводы и положения, выносимые на защиту, обоснованы, соответствуют цели и задачам и логично вытекают из материалов диссертации.

### **Объем и структура работы**

Диссертационная работа, представляющая собой самостоятельное научное исследование и соответствующая всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, изложена на 149 страницах и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов, их обсуждения, выводов и списка цитированной литературы. Диссертация содержит 19 рисунков, 1 таблицу. Библиографический указатель включает 333 источника литературы.

Во введении автор кратко описывает актуальность темы исследования, научную новизну и практическую значимость работы, формулирует цели и задачи, указывает степень достоверности результатов и предоставляет информацию о публикациях и апробации.

Обзор литературы включает 9 подразделов, в которых последовательно и подробно описаны механизмы регуляции энергетического метаболизма адипоцитов в норме и при развитии хронического воспаления при ожирении. Описаны актуальные клинические исследования применения противовоспалительной терапии ожирения и сахарного диабета 2 типа, что подтверждает необходимость поиска новых мишенией и механизмов взаимной регуляции иммунитета и метаболизма. Обзор литературы содержит полную информацию об известных эффектах ИЛ-4 как на системный энергетический метаболизм животных, так и на состояние жировой ткани и других инсулин-зависимых тканей. Анализ данных литературы позволил диссидентанту сформулировать и обосновать цели и задачи исследования.

В разделе «Материалы и методы» автор подробно описывает экспериментальные подходы, использованные в работе. На основании материалов данного раздела можно заключить, что работа выполнена на высоком научно-методическом уровне с использованием современных биохимических, генетических и цитологических методов.

Раздел «Результаты и обсуждение» описывает основные результаты работы, сгруппированные в соответствии с поставленными задачами. В разделе «Обсуждение результатов» подробно проанализированы все полученные данные и сопоставлены с результатами предыдущих исследований. Автор сопоставила влияние ИЛ-4 на различные метаболические пути адипоцитов, что позволило сформулировать новую гипотезу о метаболическом репрограммировании адипоцитов при воздействии ИЛ-4 и активации неканонического механизма термогенеза.

По результатам исследования Мичурина С.С. сформулировала 5 выводов и 5 положений, выносимых на защиту, которые являются обоснованными и полностью удовлетворяют поставленной цели и задачам исследования.

### **Рекомендации по использованию результатов и выводов, полученных в диссертации**

Данные, представленные в диссертации, могут быть внедрены в учебный процесс биологических и медицинских факультетов в рамках преподавания биохимии, иммунологии и патофизиологии энергетического метаболизма, а также при дальнейшем изучении влияния воспаления на метаболизм и чувствительность клеток к гормонам и цитокинам.

### **Апробация работы**

Результаты настоящего исследования были доложены и обсуждены на ряде профильных российских и международных конгрессов. По теме диссертации опубликовано 13 научных работ, из них 8 статей в журналах, индексируемых в международных базах данных Scopus и Web of Science. Тематика всех включенных в список публикаций соответствует теме диссертационного исследования. Содержание автореферата полностью отражает основные положения диссертации.

### **Замечания и вопросы**

Существенных замечаний и вопросов по диссертационной работе Мичуриной С.С. нет.

### **Заключение**

Диссертационная работа Мичуриной Светланы Сергеевны на тему «Регуляция поглощения и утилизации глюкозы под действием интерлейкина-4 в адипоцитах», выполненная под руководством к.б.н. Стафеева Юрия Сергеевича, является законченной самостоятельной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком методическом уровне и имеющей существенное научное и практическое значение для изучения роли воспаления в регуляции метаболизма и активации термогенеза в жировой ткани.

Таким образом, можно заключить, что диссертация Мичуриной Светланы Сергеевны на тему «Регуляция поглощения и утилизации глюкозы под действием интерлейкина-4 в адипоцитах» по своей актуальности, новизне и научно-

практической значимости соответствует требования п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным Постановлением правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (с последующими изменениями), предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. – Биохимия.

Диссертация и отзыв обсуждены и одобрены на совместном заседании Института экспериментальной медицины и кафедры патологической физиологии Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России (протокол № 4 от 19 апреля 2024 года).

**Отзыв подготовил:**

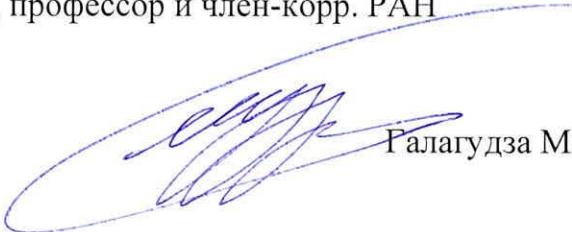
Директор Института экспериментальной медицины,

заведующий кафедрой патологической физиологии

Института медицинского образования

«НМИЦ им. В.А. Алмазова» МЗ РФ,

доктор медицинских наук, профессор и член-корр. РАН



Галагудза Михаил Михайлович

Подпись д.м.н. Галагудзы М.М. заверяю

Ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова»

Минздрава России

доктор медицинских наук

профессор



Недошивин Александр Олегович

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» МЗ РФ).

Адрес: 197341, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2.

Тел.: +7 (812) 702-37-06,

e-mail: fmrc@almazovcentre.ru, сайт: <http://www.almazovcentre.ru/>