

*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](http://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 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 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 бромукназол 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 иммуоцитохимии.

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 CO<sub>2</sub> 5%.

*Для оценки влияния пероксида водорода на прегнан X рецептор и конститутивный андростановый рецептор были сформированы следующие серии:* 1) контроль; 2) оценка влияния H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> на количество PXR и CAR и показатели ОС. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> на количество PXR и CAR. В питательную среду за 30 мин до добавления H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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 ***

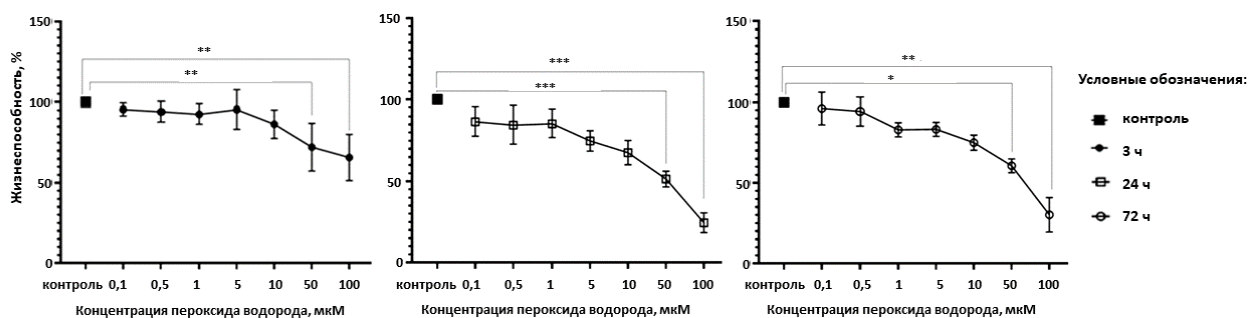


Рисунок 1 - Жизнеспособность клеток линии Сасо-2 при воздействии  $H_2O_2$  в концентрациях 0,1-100 мкМ в течение 3, 24 и 72 ч ( $M \pm SD$ ,  $n=3$ )

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).

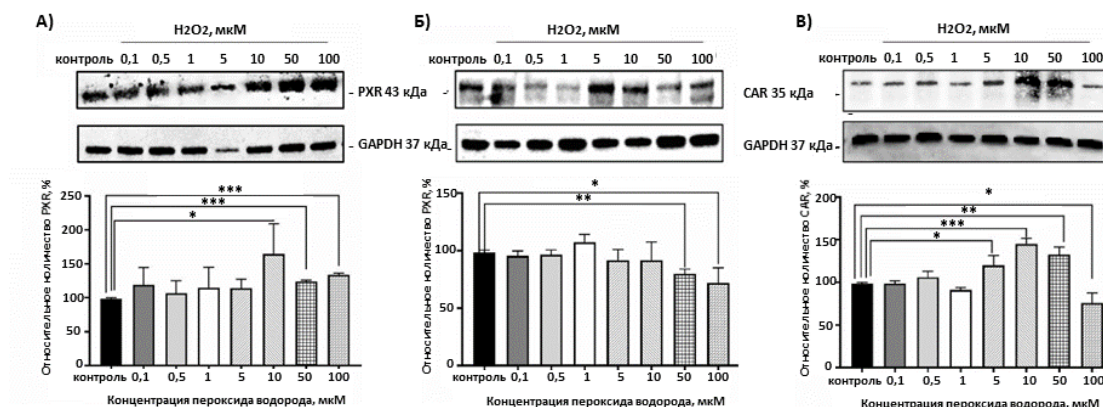


Рисунок 2 - Изменение относительного количества PXR (24 (А) и 72 ч (Б)) и CAR (72 ч (В)) при воздействии H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в концентрациях 0,1-100 мкМ (M±SD, n=3)

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).

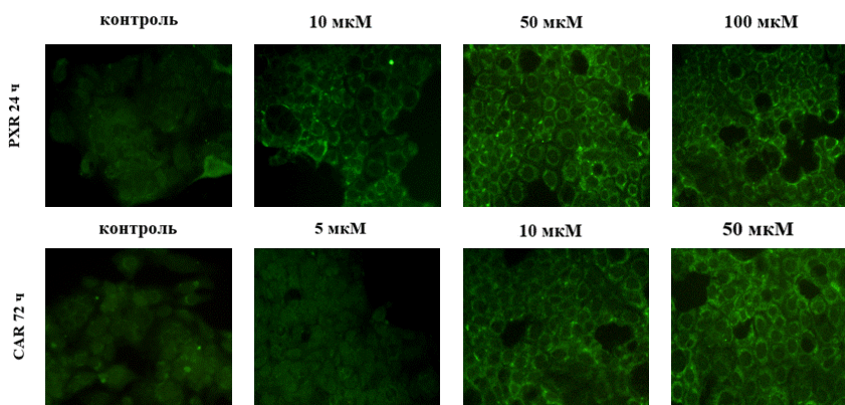


Рисунок 3 - Иммуноцитохимическое окрашивание клеток Caco-2 с использованием антител к PXR и CAR, увеличение × 400 раз

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.

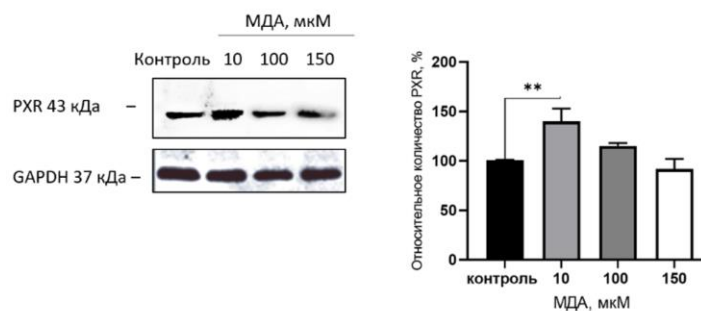


Рисунок 4 - Относительное количество PXR в клетках линии Caco-2 при воздействии МДА в концентрациях 10-150 мкМ в течение 24 ч

Ингибирование Nrf2 при воздействии H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в течение 24 ч не влияло на индуцирующее действие прооксиданта на уровень PXR. Относительное количество рецептора увеличивалось при воздействии H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> во всех концентрациях. Относительное количество CAR при сочетанном воздействии АЕМ1 и H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в концентрации 10 мкМ возрастало, при 50 мкМ не изменялось, а при 100 мкМ снижалось по сравнению с контролем (Рисунок 5).

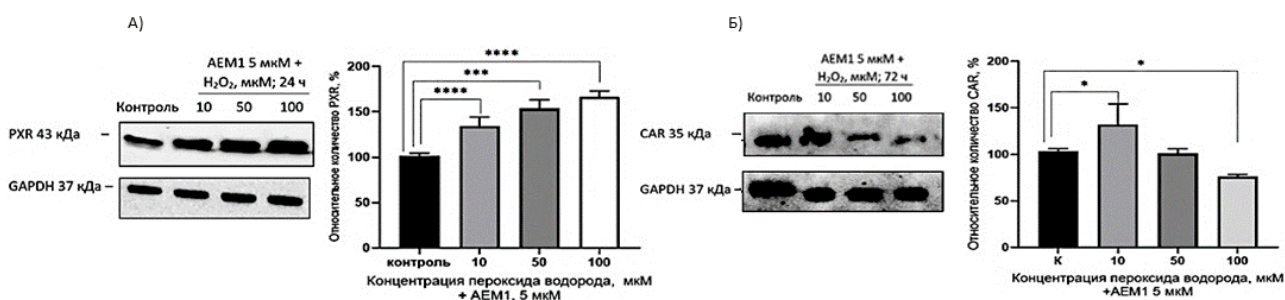


Рисунок 5 - Относительное количество PXR (24 ч (А)) и CAR (72 ч (Б)) в клетках линии Caco-2 при воздействии H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в концентрациях 10-100 мкМ в условиях ингибирования Nrf2 АЕМ1 в концентрации 5 мкМ (M ±SD, n = 3)

Таким образом, повышение относительного количества PXR под действием H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> при 24-часовом воздействии опосредовано накоплением МДА, а индукция CAR под действием H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> при длительности экспозиции 72 ч – транскрипционным фактором Nrf2.

Ингибирование PXR и CAR кетоконазолом и CINPA1 соответственно предотвращало снижение жизнеспособности клеток под действием H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 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).

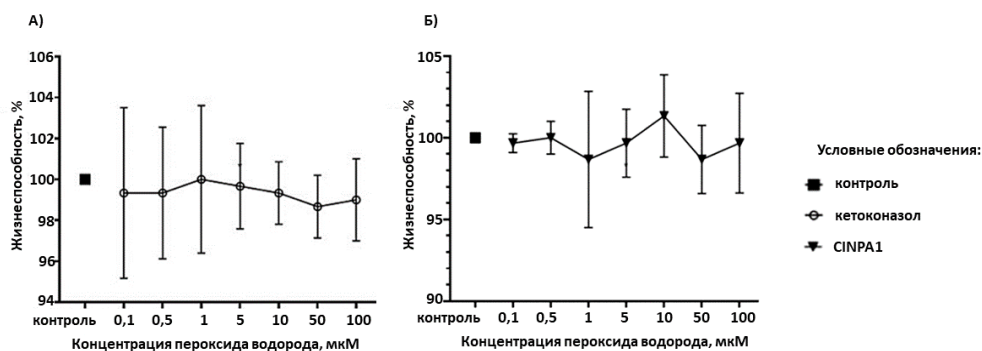


Рисунок 6 - Жизнеспособность клеток линии Сасо-2 при воздействии  $H_2O_2$  в концентрациях 0,1-100 мкМ в условиях ингибирования PXR кетоконазолом (10 мкМ) в течение 24 ч (А) и в условиях ингибирования CAR CINPA1 (10 мкМ) в течение 72 ч (Б) ( $M \pm SD$ ,  $n=3$ )

#### *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****

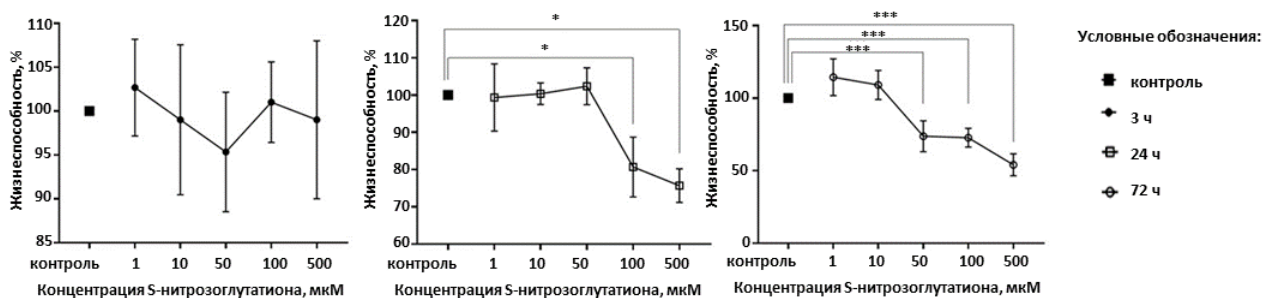


Рисунок 7 - Жизнеспособность клеток линии Сасо-2 при воздействии S-нитрозоглутатиона в концентрациях 1-500 мкМ в течение 3, 24 и 72 ч

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).

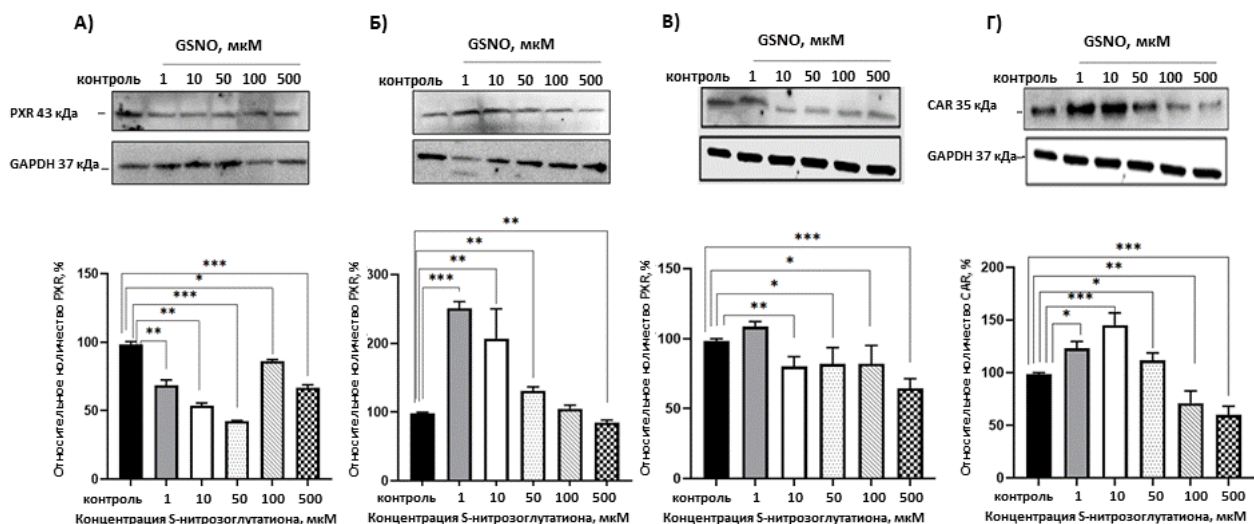


Рисунок 8 - Относительное количество PXR (3 (А), 24 (Б), 72 ч (В)) и CAR (72 ч (Г)) в клетках линии Сасо-2 при воздействии S-нитрозоглутатина в концентрациях 1-500 мкМ ( $M \pm SD$ ,  $n = 3$ )

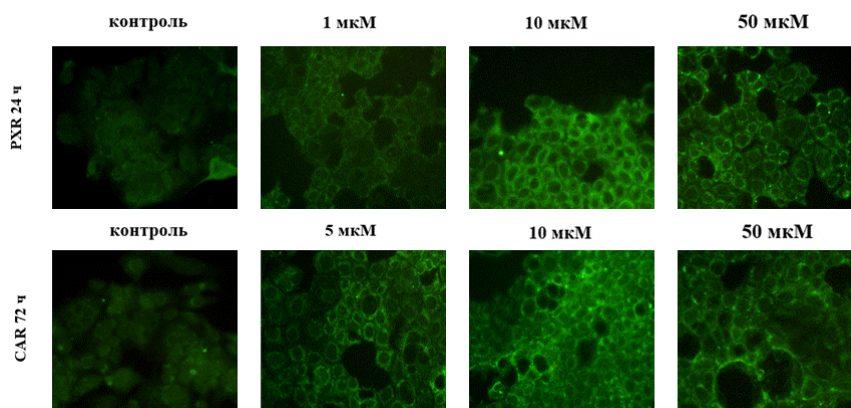


Рисунок 9 - Иммуноцитохимическое окрашивание клеток Сасо-2 с использованием антител к PXR и CAR, увеличение  $\times 400$  раз

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).

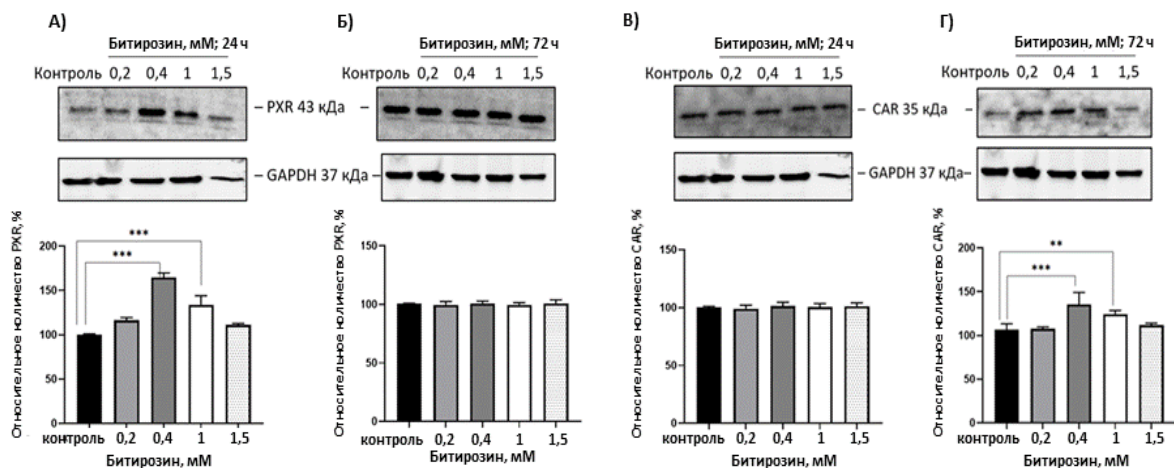


Рисунок 10 - Относительное количество PXR (24 (А) и 72 ч (Б)) и CAR (24 (В) и 72 ч (Г)) в клетках линии Сасо-2 при воздействии битирозина в концентрациях 0,2-1,5 мМ (М ±SD, n = 3).

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).

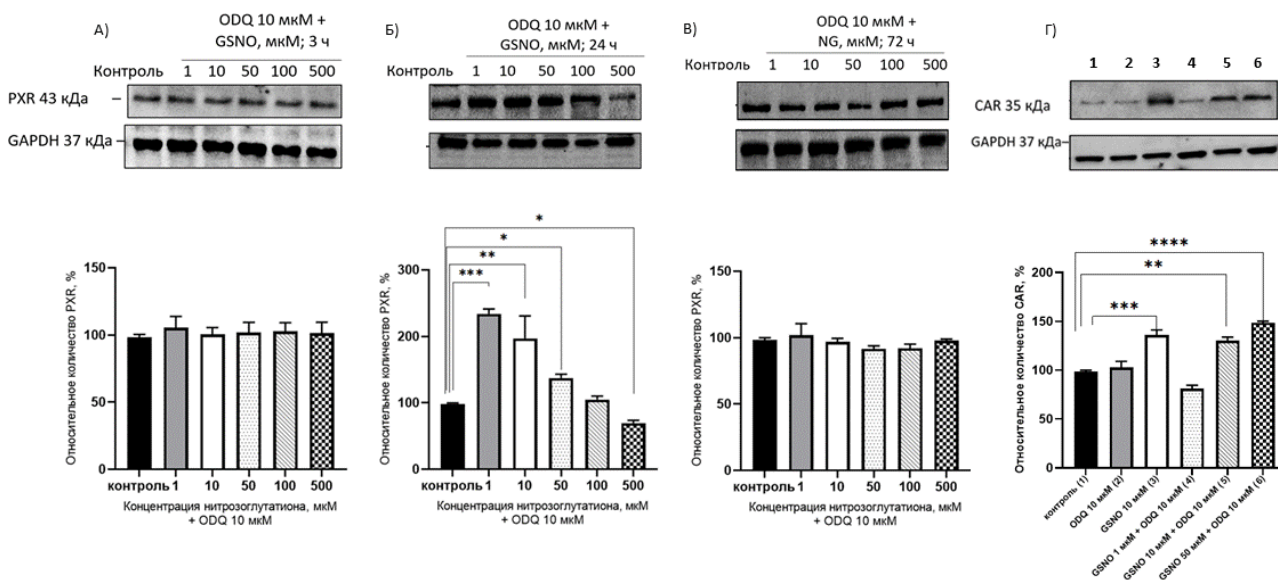


Рисунок 11 - Относительное количество PXR (3 (А), 24 (Б) и 72 ч (В)) и CAR (72 ч (Г)) в клетках линии Сасо-2 при воздействии S-нитрозоглутатиона в условиях ингибирования растворимой гуанилатциклазы ODQ в концентрации 10 мкМ

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.

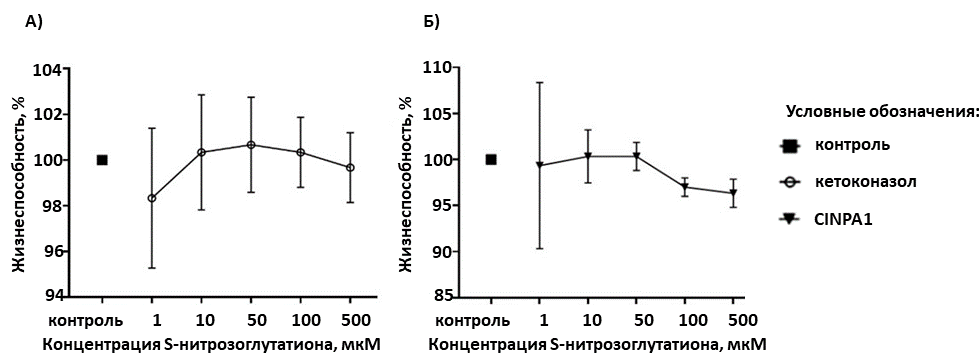


Рисунок 12 - Жизнеспособность клеток линии Caco-2 при воздействии S-нитрозоглутатиона в концентрациях 1-500 мкМ в условиях ингибирования PXR кетоконазолом (10 мкМ) в течение 24 ч (А) и в условиях ингибирования CAR CINPA1 (10 мкМ) в течение 72 ч (Б) ( $M \pm SD$ ,  $n=3$ )

## 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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (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 <sub>2</sub> O <sub>2</sub> – 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	