

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Кузикова Алексея Владимировича
«Электрохимические системы на основе изоферментов цитохрома P450: идентификация метаболитов и кинетический анализ», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия

Докторская диссертация Кузикова Алексея Владимировича посвящена разработке новых подходов, основанных на методах электрохимического анализа, для исследования кинетики цитохром P450-зависимых реакций.

Цитохромы P450 – ферменты, осуществляющие метаболизм большого числа лекарственных веществ и ряда эндогенных соединений, что обуславливает их биомедицинскую значимость. Используемые в настоящее время рутинные методы кинетического анализа цитохромов P450 имеют ряд недостатков, в числе которых необходимость реконструирования ферментной системы, многоэтапность процесса анализа образующихся метаболитов и использование трудоемких методов хроматографии и масс-спектрометрии. Эти особенности кинетического анализа цитохромов P450 ограничивают высокопроизводительные исследования, направленные на решение практических задач фармакологии. Для исследования цитохромов P450 также применяются более современные подходы, основанные на электрохимических методах. Несмотря на очевидные преимущества электрохимических методов перед классическими методами для исследования цитохромов P450, существует ряд проблем, связанных с качественным и количественным определением образующихся в ходе реакций метаболитов. Таким образом, актуальность представленной диссертационной работы Кузикова А.В. и востребованность полученных результатов не вызывают сомнения.

Автором предложен подход для идентификации образующихся в ходе цитохром P450-зависимых реакций метаболитов, основанный на их прямом электрохимическом окислении на электроде при потенциалах, отличных от потенциалов окисления субстратов. При этом регистрируемый ток пропорционален концентрации образующегося метаболита. Данный подход был реализован в сконструированной автором биэлектродной системе для определения активности цитохромов P450, в которой ион железа гема иммобилизованного фермента восстанавливается электрохимически на одном из электродов для инициирования каталитического процесса по отношению к субстратам, а образующиеся метаболиты определяются на другом электроде за счет их прямого электрохимического окисления. Применение такого подхода для исследования активности цитохромов P450 позволяет избежать не только реконструирования ферментной системы, но и в значительной степени упрощает проведение анализа образующихся метаболитов. С помощью разработанного подхода Кузиковым А.В. установлены кинетические параметры реакций, катализируемые иммобилизованными на электроде CYP19A1, CYP2C9, CYP2C19, CYP2E1, а также показана возможность использования предложенного подхода для выявления ингибиторов цитохромов P450, атипичной кинетики биотрансформации лекарственных веществ и механизмов каталитических реакций.

В диссертации также был разработан подход для определения CYP3A4 по отношению к гидрокортизону, основанный на электрохимическом восстановлении фермента и флуоресцентном определении образующегося 6 β -гидроксикортизола. Диссертантом была показана возможность применения данного подхода для выявления ингибиторов CYP3A4.

В диссертационном исследовании решена научная проблема, связанная с разработкой новых способов качественного и количественного определения метаболитов цитохром P450-

зависимых реакций, протекающих в электрохимических системах. Полученные новые результаты представляют интерес как для исследователей в области биохимии цитохромов P450, так и для экспериментальных фармакологов.

Достоверность и научно-практическая значимость выдвинутых положений и выводов не вызывают сомнения. Материал, представленный в автореферате диссертации, логично и грамотно изложен, подкреплён качественными иллюстрациями. Все результаты статистически обработаны.

Принципиальных замечаний к содержанию и оформлению автореферата нет.

На основании ознакомления с авторефератом можно утверждать, что диссертационная работа Кузикова Алексея Владимировича «Электрохимические системы на основе изоферментов цитохрома P450: идентификация метаболитов и кинетический анализ» является законченным научным исследованием, имеет научно-практическую новизну полученных результатов и полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года №842 (в ред. с последующими изменениями), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор, Кузиков Алексей Владимирович, заслуживает присуждения ему ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Заместитель генерального директора по научной работе, заведующий лабораторией генной инженерии Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства», доктор биологических наук, доцент Лазарев Василий Николаевич

07.04.2025

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства».

119435, г. Москва ул. Малая Пироговская дом 1а, ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России

Телефон: +7 (916) 635-24-55

Электронная почта: lazarev@rcpcm.org

Подпись Лазарева Василия Николаевича заверяю:

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства», кандидат биологических наук
Кострюкова Елена Сергеевна

