

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научно-исследовательской
работе федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Ярославский
государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
д.м.н., профессор И.Н. Староверов
«11»  2025 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации о научно-практической значимости диссертационной работы Слепнева Александра Александровича на тему «Роль усыновленных рецепторов в регуляции клинически значимых белков-транспортёров половыми гормонами» на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Актуальность темы выполненной работы

Диссертационная работа Слепнева А.А. посвящена актуальной проблеме современной биохимии – изучению механизмов регуляции транспортных белков под влиянием половых гормонов. В условиях стремительного развития персонализированной медицины понимание молекулярных основ гендерных различий транспортных процессов приобретает особую значимость. Транспортные белки ABC- и SLC-семейств, такие как Р-гликопротеин (Pgp), BCRP и OATP1B1/1B3, имеют широкую субстратную специфичность, участвуют в метаболических процессах, выполняют защитную функцию, играют ключевую роль в процессах всасывания, распределения и выведения лекарственных веществ, определяя их терапевтическую эффективность и безопасность.

Особую актуальность исследованию придает тот факт, что, несмотря на многочисленные работы, посвященные изучению транспортных белков, механизмы их регуляции половыми гормонами остаются недостаточно изученными. Имеющиеся в литературе данные носят неполный и зачастую противоречивый характер, отсутствуют данные о влиянии гормонов на OATP1B1/1B3. При этом клиническая значимость проблемы очевидна - половые различия в фармакокинетике многих лекарственных препаратов хорошо известны, однако их молекулярные основы требуют дальнейшего изучения.

Актуальность работы подчеркивается тем, что впервые проводится комплексное исследование роли усыновленных ядерных рецепторов (CAR, PXR, FXR, LXR α) в опосредовании эффектов половых гормонов на транспортные белки. Эти рецепторы, являясь важными регуляторами метаболических процессов, могут служить новыми мишенями для модуляции активности транспортных систем.

Таким образом, проведенное исследование отвечает современным требованиям науки и практической медицины, решая важную биохимическую проблему с очевидной перспективой практического применения полученных результатов в клинической практике. Работа вносит значительный вклад в развитие представлений о молекулярных механизмах гормональной регуляции транспортных белков и открывает новые возможности для персонализированного подхода к лекарственной терапии.

Связь работы с планом соответствующих отраслей науки и народного хозяйства

Диссертационная работа Слепнева А.А. выполнена в соответствии с тематическим планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. Работа осуществлена при частичной поддержке грантов РФФИ №16-04-00320 а, №18-415-623001 р_мол_а.

Новизна исследования и полученных результатов

Научная новизна работы убедительно аргументирована и подтверждается перечнем впервые полученных результатов. Впервые на системном уровне изучено влияние половых гормонов на функционирование ключевых представителей ABC- и SLC-транспортёров (Pgp, BCRP и OATP1B1/1B3) с одновременной оценкой роли усыновленных ядерных рецепторов в этих процессах.

По результатам диссертационного исследования показано, что эстрадиол, стимулируя CAR, повышает количество и активность Pgp. Прогестерон, индуцируя PXR, повышает количество Pgp, однако повышения активности белка-транспортёра не происходит, вследствие негеномной (прямой) ингибирующей активности прогестерона по отношению к молекуле транспортёра. Тестостерон снижает количество Pgp, ингибируя CAR.

Выявлено, что половые гормоны во всех терапевтических концентрациях, увеличивают относительное количество BCRP. В реализации стимулирующего эффекта эстрадиола участвуют CAR и PXR, тестостерона и прогестерона – FXR и PXR.

Показано, что эстрадиол повышает относительное количество OATP1B1, действуя через CAR и PXR, а тестостерон увеличивает уровень

транспортера, действуя через FXR, PXR и LXR α . Прогестерон вызывает снижение количества OATP1B1.

Стимулирующий эффект эстрадиола на количество OATP1B3, реализуется через FXR, тестостерон увеличивает количество белка-транспортера через LXR α . Прогестерон не влияет на уровень OATP1B3.

Полученные результаты раскрывают молекулярные механизмы влияния половых гормонов на клинически значимые белки-транспортёры в клетках, не являющихся мишенями для половых гормонов (энтероциты, гепатоциты), однако транспортные белки в этих клетках выполняют важные защитные функции.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Диссертационное исследование вносит существенный вклад в развитие современных представлений о механизмах регуляции транспортных белков. Особенно значимыми представляются данные о роли усыновленных рецепторов в регуляции транспортеров и выявление концентрационно-зависимых эффектов половых гормонов на Pgp, BCRP и OATP1B1/1B3.

Научную ценность представляют полученные данные о ранее неизвестных путях регуляции, автором установлено, что воздействие половых гормонов на транспортные системы опосредуется через комплексное взаимодействие с рецепторами CAR, PXR, FXR и LXR α , причем характер этого взаимодействия зависит как от типа гормона, так и от конкретного транспортера. Теоретическая ценность работы заключается в существенном расширении фундаментальных знаний о молекулярных механизмах клеточной регуляции. Исследование вносит значительный вклад в понимание сложных молекулярных взаимодействий между эндокринной системой и транспортными процессами, раскрывая новые аспекты интеграции метаболических путей.

Практическая значимость исследования определяется его непосредственной направленностью на решение актуальных проблем современной биохимии. Установленный факт концентрационной зависимости наблюдаемых эффектов имеет принципиальное значение для клинического применения гормональных препаратов. Полученные результаты открывают перспективы для разработки новых подходов к персонализированной терапии с учетом индивидуальных особенностей гормонального статуса пациентов.

Личный вклад автора

Автором самостоятельно подготовлен аналитический обзор литературы по изучаемой проблеме, составлена программа исследования, проведены эксперименты *in vitro*, хроматографические исследования, вестерн-блот анализ, обработка и интерпретация полученных данных, подготовлены публикации по диссертационной работе.

Рекомендации по использованию результатов диссертационной работы

Результаты диссертационной работы используются в учебном процессе на кафедрах биологической химии и фармакологии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, внедрены в работу Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

Результаты диссертационного исследования целесообразно использовать при разработке методических рекомендаций и учебных пособий по биохимии и фармакологии.

Полнота изложения результатов диссертации в научной печати

По результатам исследования автором опубликовано 23 научные печатные работы, в том числе 12 статей в рецензируемых изданиях перечня ВАК при Минобрнауки России, из них 10 в изданиях, индексируемых в международных цитатно-аналитических базах данных Web of Science и Scopus, получено 2 патента Российской Федерации, 9 статей и тезисов в иных изданиях.

Результаты исследования были представлены на научных конференциях различного уровня.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Автореферат достаточно полно отражает основные результаты и положения диссертационного исследования.

Диссертация соответствует пунктам 2, 7, 8 паспорта научной специальности 1.5.4. Биохимия (медицинские науки).

Оценка содержания, оформления и завершенности диссертации в целом

Диссертационная работа содержит введение, 4 главы (обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследования, обсуждение результатов), выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений, список литературы. Диссертация изложена на 187 страницах, проиллюстрирована 53 рисунками и 14 таблицами. Список литературы включает 50 источников отечественной и 288 иностранной научной литературы.

Глава «Введение» представленной диссертационной работы демонстрирует высокий уровень научной проработки исследуемой проблемы. Автор убедительно обосновывает актуальность темы, последовательно раскрывая значение транспортных белков ABC и SLC семейств в физиологических и патологических процессах. Актуальность исследования подкреплена тщательным анализом современных научных данных, где особо отмечается недостаточная изученность механизмов гормональной регуляции указанных

транспортёров. Цель и задачи работы сформулированы четко и конкретно, полностью соответствуют заявленной актуальности. Особого внимания заслуживает комплексный подход к изучению проблемы – от оценки прямого влияния гормонов до анализа роли усыновленных рецепторов в этих процессах.

В главе «Обзор литературы» представлена глубокая и всесторонняя проработка темы, связанной с изучением транспортных белков и их регуляции половыми гормонами через усыновленные ядерные рецепторы.

Глава «Материалы и методы» представленного диссертационного исследования отличается высокой степенью детализации и методологической проработанности. Автор демонстрирует комплексный подход к изучению влияния половых гормонов на транспортные белки, используя современные клеточные модели и аналитические методы.

Глава «Результаты исследования» представляет собой детальное и систематизированное изложение экспериментальных данных, посвященных изучению влияния половых гормонов (эстрадиола, прогестерона, тестостерона) на активность, количество и регуляцию ключевых транспортных белков — Pgr, BCRP, OATP1B1 и OATP1B3 в клеточных линиях Caco-2 и HepG2. Исследование охватывает несколько ключевых аспектов. Во-первых, оценивается прямое влияние гормонов на активность транспортных белков при кратковременной экспозиции (15-30 минут), что позволяет судить о негеномном модулирующем эффекте. Во-вторых, анализируется долгосрочное воздействие (24 часа) на активность, экспрессию генов и уровень белков-транспортёров, что дает представление о возможных регуляторных механизмах. В-третьих, изучается роль ядерных рецепторов (CAR, PXR, FXR, LXR α) в опосредовании эффектов гормонов, что углубляет понимание молекулярных основ наблюдаемых изменений.

Результаты представлены четко и логично, с акцентом на статистическую достоверность. Данные сопровождаются таблицами и графиками, включая кривые зависимости «доза–эффект» (IC50), уровни экспрессии мРНК и белка, что значительно облегчает восприятие информации. Особого внимания заслуживает выявление различий в действии гормонов: например, эстрадиол и прогестерон преимущественно повышают экспрессию Pgr и BCRP, тогда как тестостерон может оказывать противоположный эффект. Влияние на инфлюксные транспортеры OATP1B1/OATP1B3 также варьирует в зависимости от типа гормона, что указывает на сложную и неоднозначную регуляцию этих систем.

Глава «Обсуждение результатов» представляет собой логичное завершение исследования, в котором последовательно анализируются полученные результаты и их значение для понимания регуляции транспортных белков под

влиянием половых гормонов.

Особую ценность работе придает исследование молекулярных механизмов, лежащих в основе наблюдаемых эффектов. Автор выдвигает и обосновывает гипотезу о том, что в клетках кишечника и печени, не являющихся классическими мишенями для половых гормонов, их действие опосредуется через усыновленные рецепторы CAR, PXR, FXR и LXR α . Это предположение подтверждается экспериментальными данными, показывающими, что разные гормоны избирательно активируют различные комбинации этих рецепторов. Например, показано, что эстрадиол преимущественно действует через CAR и PXR, прогестерон - через PXR и FXR, а тестостерон - через PXR, FXR и LXR α , одновременно подавляя CAR. Эти результаты не только расширяют представления о путях регуляции транспортных белков, но и предлагают новую концепцию защиты клеток от высоких доз гормонов через активацию ксенобиотик-чувствительных рецепторов.

В заключительной части автор обобщает полученные данные, подчеркивая наличие выявленных эффектов преимущественно при высоких концентрациях гормонов, что позволяет рассматривать их как часть защитного механизма организма от избытка стероидных соединений.

Особое внимание уделяется практическим аспектам работы, в частности возможному влиянию гормональной терапии на механизмы регуляции и транспорт лекарственных веществ, являющихся субстратами изученных транспортеров. Автор также отмечает ограничения исследования *in vitro*, связанные с использованием клеточных линий, и намечает направления для дальнейших исследований, включая необходимость верификации полученных данных в экспериментах *in vivo*.

Научные положения, выводы и рекомендации логично вытекают из содержания диссертации, отражают поставленные задачи, хорошо аргументированы. Работа представляет собой завершенное диссертационное исследование, имеющее научно-практическое значение.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Принципиальных замечаний по структуре диссертации, использованным материалам и методам, изложению полученных результатов, содержанию и оформлению работы нет. Встречающиеся в работе стилистические погрешности и опечатки не влияют на ее научно-практическую ценность.

В плане дискуссии возникли следующие вопросы:

1. Почему при разных сроках инкубации (короткие и длительный) клеток Сасо-2 и НерG2 с половыми гормонами проявляется их разнонаправленное действие на относительное количество и активность изученных транспортеров?

2. Почему вы использовали в эксперименте одновременно 3 ингибитора усыновленных рецепторов только при изучении влияния тестостерона на OATP1B1 и OATP1B3?

Заключение

Диссертация Слепнева Александра Александровича «Роль усыновленных рецепторов в регуляции клинически значимых белков-транспортеров половыми гормонами», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук, является законченной научно-квалификационной работой, содержащей решение крупной научной проблемы – установления роли усыновленных ядерных рецепторов CAR, PXR, FXR, LXR α в регуляции функционирования белков-транспортеров половыми гормонами, имеющей существенное значение для биохимии.

Диссертационная работа соответствует всем требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор, Слепнев Александр Александрович, заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Отзыв обсужден на заседании кафедры биологической химии ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России, протокол № 3 от 29 октября 2025 года.

Доктор химических наук,
заведующий кафедрой биологической химии
ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России

Корсаков Михаил Константинович

Подпись Корсакова М.К. заверяю
Ученый секретарь ученого совета
ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России,
д.м.н., профессор



Мельникова Ирина Михайловна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России)

Адрес: 150000, Ярославль, ул. Революционная, 5.

Тел. +7(4852)30-56-41; +7(4852)72-91-42

e-mail: rector@ysmu.ru

<https://ysmu.ru>