

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора, члена-корреспондента РАН Тюренкова Ивана Николаевича на диссертационную работу Слепнева Александра Александровича на тему «Роль усыновленных рецепторов в регуляции клинически значимых белков-транспортёров половыми гормонами», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.4. Биохимия

Актуальность темы диссертационного исследования

Диссертационная работа Слепнева А.А. посвящена исследованию механизмов регуляции транспортных белков посредством ядерных транскрипционных факторов под влиянием половых гормонов. Транспортные белки (Р-гликопротеин, BCRP и OATP1B1/1B3) считаются наиболее значимыми для клиники, поскольку для них характерны следующие ключевые свойства: большое количество лекарственных средств, которые являются их субстратами; участие в фармакокинетике веществ-субстратов, определяя их концентрацию в крови и тканях; участие в межлекарственных взаимодействиях, связанных с ингибированием или стимуляцией активности транспортёров.

Автор обратил внимание на возможность регуляции транспортных белков половыми гормонами через систему ядерных рецепторов, которые ранее считались орфанными, а после установления их лигандов называются усыновленными (CAR, PXR, FXR, LXR α). Причем выбрал для исследования клетки, которые не являются мишенями для половых гормонов (энтероциты и гепатоциты), в них отсутствуют соответствующие специфические гормональные рецепторы, поэтому они должны иметь иные механизмы регуляции. Однако, эти клетки играют важную роль в процессах всасывания, и выведения, в которых участвуют транспортные белки. Решению данной актуальной проблемы биохимии посвящено настоящее исследование.

Степень обоснованности и достоверности научных выводов и практических рекомендаций

Высокая степень обоснованности и достоверности результатов диссертации Слепнева А.А. определяется достаточным объемом экспериментального материала, продуманным дизайном исследования, грамотным использованием современных аналитических методов и адекватной статистической обработкой полученных результатов.

Положения, выносимые на защиту и выводы, логически вытекают из результатов собственных исследований автора и согласуются с теоретическими представлениями об изучаемой проблеме, на основании чего можно сделать заключение об их обоснованности. Таким образом, научные положения, результаты и выводы, сформулированные в диссертационной работе Слепнева А.А. являются обоснованными и достоверными.

Научная новизна полученных данных

Диссертационное исследование вносит существенный вклад в развитие современных представлений о механизмах координации функционирования транспортных белков. Автор получил данные о ранее неизвестных путях регуляции белков-транспортёров, установил, что воздействие половых гормонов на транспортные системы опосредуется через комплексное взаимодействие с ядерными рецепторами CAR, PXR, FXR и LXR α , причем характер и спектр этого взаимодействия зависит как от типа гормона, так и от конкретного транспортера.

Эстрадиол, прогестерон и тестостерон избирательно активируют комбинации разных усыновленных ядерных рецепторов в своем регулирующем действии на изученные эфлюксные и инфлюксные транспортеры. Эстрадиол и прогестерон в терапевтических дозах увеличивают количество белков-транспортёров стимулируя транскрипционные факторы CAR, PXR и FXR. В отношении тестостерона показана разнонаправленная регуляция – стимуляция PXR, FXR и LXR α на фоне ингибирования CAR.

Научная новизна диссертационной работы определяется рядом впервые полученных результатов. Наиболее значимыми представляются данные о роли усыновленных рецепторов в регуляции транспортёров и выявление концентрационно-зависимых эффектов половых гормонов в их регулировании.

Показано, что несмотря на прямое ингибирующее действие эстрадиола, прогестерона и тестостерона, половые гормоны увеличивают экспрессию генов и уровень изученных транспортных белков при долгосрочном воздействии. Такой двунаправленный эффект объясняется балансом между негеномным влиянием на активность транспортера и стимуляцией его синтеза, что представляет особый интерес для понимания биохимических механизмов гормональной регуляции.

Значимость для науки и практики полученных результатов

Значимость результатов диссертационного исследования для науки связана с установлением новых регуляторных механизмов транспортных белков (P-гликопротеин, BCRP и OATP1B1/1B3) половыми гормонами через усыновленные ядерные рецепторы CAR, PXR, FXR и LXR α . Данный координирующий механизм выявлен в интервале терапевтических доз, что позволяет считать его концентрационно-зависимым и защитным механизмом, направленным на активацию удаления и метаболизма стероидных гормонов энтероцитами и гепатоцитами.

Работа представляет значительный научный и практический интерес, так как не только углубляет понимание механизмов гормональной регуляции транспортных белков, но и предлагает новые подходы к прогнозированию

межлекарственных взаимодействий, связанных с влиянием гормонов в терапевтических дозах на активность клинически значимых транспортеров. Полученные результаты позволяют назначать лекарственную терапию препаратами, являющимися субстратами изученных белков-транспортеров, учитывая сопутствующие эндокринные заболевания и индивидуальный гормональный профиль пациентов.

Полнота освещения результатов диссертации в печати

Основные результаты диссертации достаточно полно освещены в печати. По результатам работы опубликовано 23 статьи, включая 12 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Минобрнауки России, в том числе 10 статей в изданиях, входящих в базы Web of Science и Scopus. Получено 2 патента Российской Федерации. В других изданиях опубликовано 9 статей и тезисов докладов в материалах международных и российских конференций.

Общая оценка содержания и структуры диссертационной работы

Диссертация имеет классическую структуру, соответствующую всем действующим требованиям, и включает введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследования, обсуждение результатов, заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений, список литературы. Объем диссертационной работы составляет 187 страниц машинописного текста и содержит 53 рисунка, 14 таблиц, 338 источников литературы.

Глава «Введение» диссертационной работы включает все необходимые разделы. Задачи работы сформулированы лаконично и логично, полностью соответствуют заявленной актуальности и цели.

В главе «Обзор литературы» дана характеристика транспортных белков, ядерных рецепторов, описаны известные факты о влиянии половых гормонов на изучаемые транспортеры и усыновленные ядерные рецепторы. Иллюстрации в виде схем и таблиц облегчают восприятие сложного материала.

Глава «Материалы и методы» отражает комплексный подход к изучению заявленной проблемы. В качестве объектов исследования выбраны линии клеток Сасо-2 и HepG2, которые являются общепризнанными моделями для изучения Pgp/BCRP и OATP1B1/OATP1B3. Методологическая часть исследования выполнена на высоком техническом уровне. Применение методов ПЦР в реальном времени для анализа экспрессии генов и вестерн-блоттинга для определения содержания белков соответствует современным стандартам молекулярно-биологических исследований. Использование высокочувствительного метода ВЭЖХ-МС/МС для количественного определения маркерных субстратов транспортеров обеспечило высокую точность и воспроизводимость полученных результатов. Статистическая

обработка данных выполнена с применением современных методов вариационной статистики с использованием специализированного программного обеспечения.

В главе «Результаты исследования» последовательно в соответствии с задачами диссертации изложены и проиллюстрированы полученные данные. Изучено влияние половых гормонов на активность Pgp, BCRP, OATP1B1 и при кратковременном воздействии (15-30 мин) для оценки их прямого эффекта на молекулу транспортера. Выявлено прямое дозозависимое тканеспецифическое ингибирующее действие половых гормонов на активность изученных транспортеров.

Исследовано влияние половых гормонов на экспрессию генов, кодирующих белки-транспортеры, их относительное количество и активность при длительном воздействии (24 ч). В большинстве экспериментов установлено стимулирующее действие гормонов на экспрессию генов транспортеров, что приводит к увеличению их количества и чаще всего сопровождается повышением активности.

Оценено влияние половых гормонов на относительное количество транскрипционных факторов CAR, PXR, FXR, LXR α в ядерной фракции клеток Caco-2 и HepG2. Для установления роли усыновленных рецепторов в регуляции транспортеров были использованы специфические ингибиторы рецепторов. Установлены ключевые ядерные рецепторы, опосредующие стимулирующий эффект половых гормонов на белки-транспортеры.

В главе «Обсуждение» и в заключении автор проводит анализ полученных результатов, сопоставляя их с данными научной литературы, и выделяя новизну исследования. Выдвигается гипотеза о защитном механизме активации транспортных белков высокими дозами половых гормонов через систему усыновленных рецепторов, чувствительных к ксенобиотикам. Данный механизм характерен для клеток кишечника и печени, которые не являются специфическими мишенями для половых гормонов, однако эти клетки играют важную роль в фармакокинетике лекарственных препаратов.

Выводы, научные положения и практические рекомендации диссертации соответствуют заявленной цели, задачам и результатам исследования.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат диссертации отражает полученные результаты, положения и выводы диссертации, написан в соответствии с требованиями ВАК при Минобрнауки России. Завершая анализ диссертационной работы, считаю необходимым отметить её высокий уровень концептуальности, методический уровень и несомненную теоретическую и практическую значимость.

Принципиальных замечаний при знакомстве с диссертационной работой не возникло. Отдельные опечатки и стилистические погрешности не влияют на общее положительное впечатление.

В порядке дискуссии хотелось бы задать следующие вопросы:
как Вы считаете, на каких ещё клеточных линиях можно было бы подтвердить гипотезу о стимуляции транспортных белков половыми гормонами посредством усыновленных рецепторов?
почему половые гормоны в физиологических концентрациях не проявили прямого ингибирующего действия на белки-транспортёры?

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Слепнева Александра Александровича на тему «Роль усыновленных рецепторов в регуляции клинически значимых белков-транспортёров половыми гормонами», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук, является законченной научно-квалификационной работой, содержащей решение крупной научной проблемы – изучение роли усыновленных ядерных рецепторов в качестве посредников в регуляции функционировании белков-транспортёров Pgr, BCRP, OATP1B1, OATP1B3 половыми гормонами, имеющей важное научно-практическое значение для биохимии, что 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.

Доктор медицинских наук по специальности
3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, профессор,
член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки
Российской Федерации, заслуженный работник
высшей школы Российской Федерации,
заведующий лабораторией фармакологии
сердечно-сосудистых средств НЦИЛС,
профессор кафедры организации
фармацевтического дела, фармацевтической технологии
и биотехнологии ФГБОУ ВО ВолгГМУ
Минздрава России



Тюренков И.Н.

«20» ноября 2025 г.

Подпись верна
Ученый секретарь ФГБОУ ВО ВолгГМУ
Минздрава России, к.м.н.



Емельянова О.С.

400066, г. Волгоград, площадь Павших Борцов, зд. 1
e-mail.ru: fibfuv@mail.ru, 8(8842)40-30-04, 8-903-373-19-41