

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук, профессора Селятицкой Вера Георгиевны на диссертационную работу Ларисы Абрамовны Федосеевой «Экспрессия ключевых генов ренин-ангиотензиновой системы у гипертензивных крыс НИСАГ», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика

Актуальность избранной темы. Артериальная гипертензия - одна из главных проблем современной медицины, значимая причина инвалидизации и смертности лиц трудоспособного возраста. Актуальность проблемы артериальной гипертензии определяется ее высокой популяционной частотой (около 40% взрослого населения), влиянием на состояние здоровья, работоспособность и продолжительность жизни, что указывает на важность проведения исследований в этой области. Особое место в них занимают экспериментальные работы, которые позволяют изучать молекулярно-генетические механизмы развития заболевания, особенно на моделях наследственной гипертензии.

В контроле уровня артериального давления решающую роль играет ренин-ангиотензиновая система (РАС). Ее медиаторы обеспечивают поддержание водно-солевого гомеостаза, отвечают за адаптивные реакции организма, в том числе за оптимизацию центральной гемодинамики при ее острых нарушениях. Первоначально РАС была описана как гормональная система, обладающая преимущественно системным эффектом, но в настоящее время признано, что многие органы (глаз, почка, сердце, легкие, мозг, кишечник и пр.) содержат локальные РАС. Известно, что длительная устойчивая гиперфункция РАС сопровождается развитием неблагоприятных эффектов и лежит в основе развития и прогрессирования различных патологических состояний, прежде всего патологии почек и сердечно-сосудистой системы.

Изложенные выше медико-биологические предпосылки и определили высокую актуальность и цель диссертационного исследования Федосеевой Ларисы Абрамовны, направленного на сравнительное исследование транскрипционной активности генов РАС и связанных с ее функционированием генов тирозин-гидроксилазы и циклооксигеназы-2 в условиях покоя и стресса путем водной депривации у крыс линии НИСАГ с наследственной стресс-индуцируемой артериальной гипертензией и крыс линии WAG разных возрастных групп.

Обоснованность и достоверность научных положений и выводов.

Достоверность, обоснованность научных положений и выводов, сформулированных в диссертации, подтверждены ее высоким научно-методическим уровнем. В работе автором использованы современные методы: выделение суммарной РНК из тканей; получение кДНК (обратная транскрипция); определение уровня экспрессии генов путем измерения содержания мРНК методом ПЦР в реальном времени; выделение ДНК из печени крыс; определение нуклеотидной последовательности 5'-области гена *Lngfr* с секвенированием продуктов ПЦР по методу Сэнгера на автоматическом секвенаторе ABI Prism 310 Genetic Analyzer ("Perkin Elmer", США) с использованием специальных наборов.

Все изложенное выше позволяет считать, что представленные автором результаты достоверны, а научные положения и выводы, в основу которых были положены полученные результаты, полностью обоснованы.

Научная новизна исследования. Сравнительное изучение на крысах двух линий (гипертензивных крыс НИСАГ и нормотензивных крыс WAG) экспрессии генов РАС, а также тирозин-гидроксилазы и циклооксигеназы-2, позволило автору диссертационной работы впервые показать, что в онтогенезе развитие гипертензивного статуса у крыс НИСАГ проходит в два этапа. На первом этапе у 1,5 месячных молодых животных была выявлена повышенная экспрессия гена ренина в почке, а также активация мозговой РАС, которая выражалась в увеличенном содержании мРНК гена ангиотензиногена и в дисбалансе рецепторов ангиотензина. В мозговых структурах и в надпочечнике был повышен уровень экспрессии гена циклооксигеназы-2, а уровень мРНК гена тирозин-гидроксилазы был повышен в гипоталамусе, свидетельствуя о высокой активности центральной катехоламинергической системы. На втором этапе, к четырем месяцам, активность генов РАС почки и мозговых структур существенно снижалась, а экспрессия гена тирозин-гидроксилазы повышалась в продолговатом мозге, где локализованы сосудодвигательные центры. В миокарде были выявлены изменения, характерные для сопутствующей гипертрофии левого желудочка, а именно высокая экспрессия гена ангиотензин-превращающего фермента, которая нормализовалась при ограничении потребления воды.

Общая характеристика работы. Диссертационная работа Л.А. Федосеевой имеет традиционную композицию, оформлена в соответствии с требованиями ВАК и состоит из введения, обзора литературы; главы, посвященной описанию материала и методов исследования; главы, в которой излагаются результаты собственных исследований; общего обсуждения, и выводов. Список цитированной литературы включает 993 источника, из них

961 источник иностранный. Работа изложена на 262 страницах печатного текста, иллюстрирована 48 рисунками и 3 таблицами.

Во введении имеются все необходимые подразделы, представлена актуальность исследования, сформулированы цель и задачи, показана научная новизна исследования, его теоретическая значимость, сформулированы положения, выносимые на защиту. Приводятся сведения об апробации диссертационной работы, которые свидетельствуют о широком обсуждении результатов, полученных автором, на отечественных конференциях и съездах.

Обзор литературы свидетельствует о том, что автор свободно ориентируется в современной иностранной научной литературе, однако объем литературного обзора более 100 страниц указывает, что автор не смогла обобщить большой объем имеющихся научных данных по изучаемой проблеме. Для диссертанта важно не только знать литературу по проблеме, но и вычленить главное, для того чтобы понять свои собственные результаты.

В главе 2 "Материалы и методы" подробно описаны используемые методы, которые современные, информативны, дали возможность автору получить новые принципиальные результаты. Перечислены компьютерные программы выбора олигонуклеотидных последовательностей – праймеров, приведены критерии их выбора и характеристики. Охарактеризованы экспериментальные животные: крысы гипертензивной линии НИСАГ и контрольной нормотензивной линии WAG. Подробно описаны методы выделения РНК и ДНК, получения кДНК, секвенирования. Описание метода ПЦР в реальном времени предваряется обоснованием выбора пути математической обработки результатов с помощью калибровочных кривых, построенных по «усредненному образцу». Однако следует отметить неправомерность, наряду с непараметрическими, применения методов параметрической статистики для обработки результатов, полученных при столь малом объеме выборок – как следует из текста на стр. 125 в группах было всего по 6 животных. При изложении результатов корреляционного анализа не следует употреблять словосочетание «корреляции признаков», а следует использовать правильное словосочетание, а именно «корреляционные связи признаков».

В главе 3 изложены полученные сведения об уровнях мРНК изучаемых генов у крыс НИСАГ относительно WAG, сгруппированных в однотипные диаграммы по органам и возрастам. Кроме того, для молодых животных определены корреляционные связи уровней мРНК как с артериальным давлением, так и между собой. Отдельная часть главы «Результаты»

посвящена секвенированию фрагмента 5'-области гена *Ngfr* с целью выявления мутации у крыс линий НИСАГ и WAG, аналогичной имеющейся у крыс линии SHR и ассоциированной с гипертензивным статусом этих животных.

В обсуждении проведен анализ полученных результатов и их сравнение с литературными данными, сделаны необходимые обобщения. Автором обосновано предположение, что в основе формирования гипертензивного статуса у крыс НИСАГ в молодом возрасте может лежать повышенная активность РАС мозга, выражающаяся в высокой экспрессии гена ангиотензиногена. На втором этапе формирования гипертензии функция поддержания высокого артериального давления переходит к другим системам. Следует отметить, что в разделе обсуждения, посвященном локусу гена *Ngfr*, диссертант не ограничился констатацией факта отсутствия различий у крыс двух линий в секвенированном фрагменте, ассоциированном с ростом артериального давления. Анализ генных карт позволил автору высказать предположения о других возможных генах-кандидатах, расположенных в данном локусе.

Работа завершается выводами, которые носят обобщающий характер, опираются на анализ и синтез полученных данных и соответствуют полученным результатам.

В целом диссертационную работу Федосеевой Ларисы Абрамовны можно квалифицировать как законченное научное исследование, содержащее новые фундаментальные, важные для биологической науки результаты. С практической точки зрения, полученные результаты имеют значение как основа для понимания тех магистральных путей, по которым следует двигаться при разработке новых фармакологических средств лечения артериальной гипертензии.

Замечаний по сути работы нет. Однако чрезмерный объем литературного обзора (104 страницы), обсуждения полученных результатов (43 страницы), а также использованных литературных источников (993), вызывают недоумение. Нельзя объять необъятное, а существующий объем литературных сведений о механизмах развития артериальной гипертензии поистине необъятен. Поэтому на будущее хотелось бы автору пожелать выработать умение концентрироваться на главном в своей работе.

Автореферат написан по требуемой форме, содержит всю необходимую информацию и соответствует содержанию диссертации.

Результаты, представленные в диссертации Л.А. Федосеевой, широко обсуждены на научных форумах, автором опубликовано 24 работы, среди

которых 6 статей в научных журналах из перечня ВАК, 2 статьи в зарубежных изданиях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Л.А. Федосеевой «Эспрессия ключевых генов ренин-ангиотензиновой системы у гипертензивных крыс НИСАГ», выполненная под научным руководством доктора биологических наук, профессора Г.М. Дымшица, доктора биологических наук, профессора А.Л. Маркеля, и представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика, является законченным научно-квалификационным исследованием, в котором содержится решение задачи, имеющей важное значение для генетики - получены новые фундаментальные знания о генетических механизмах участия тканевых РАС в становлении стресс-чувствительной формы артериальной гипертензии у экспериментальных животных.

По актуальности, научной новизне, достоверности основных положений и выводов диссертационная работа Л.А. Федосеевой отвечает требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 - генетика.

Заместитель директора по научной работе
ФГБУ «Научный центр клинической
и экспериментальной медицины»
Сибирского отделения РАМН,
руководитель лаборатории эндокринологии
д.б.н., профессор

В.Г. Селятицкая

630117, Новосибирск, ул. Тимакова, 2

Телефон: (383) 333-68-22

E-mail: ccem@soramn.ru

