

**РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ**
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ И БИОФИЗИКИ

630117, Новосибирск, ул.Тимакова, 2
E-mail: imbb@soramn.ru
WWW: soramn.ru

Тел: (383) 335-98-47
Факс: (383) 335-98-47

УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения «Научно-
исследовательский институт молекулярной
биологии и биофизики» СО РАМН

академик РАМН Ляхович В.В.



«24» марта 2014 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу

Федосеевой Ларисы Абрамовны «Экспрессия ключевых генов ренин-ангиотензиновой системы у гипертензивных крыс НИСАГ», представленной к защите на соискание степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика

Актуальность для науки и практики

Диссертационная работа Федосеевой Ларисы Абрамовны «Экспрессия ключевых генов ренин-ангиотензиновой системы у гипертензивных крыс НИСАГ» посвящена исследованию транскрипционной активности генов ренин-ангиотензиновой системы и связанных с ее функционированием генов тирозин-гидроксилазы и циклооксигеназы-2 у крыс НИСАГ, являющихся генетической моделью стресс-индуцируемой гипертензии.

Гипертоническая болезнь – это широко распространенное и в подавляющем большинстве случаев полигенное заболевание человека, развитие которого связано с определенным вкладом большого числа генов, а также средовых факторов. Проблема гипертонии является одной из самых актуальных в современной медицине, несмотря на существенные достижения в изучении ее патогенеза. Повышенное артериальное давление лежит в основе сердечнососудистых заболеваний, являющихся причиной 57% всех смертей в России. Большая распространенность гипертонической болезни и тяжелые осложнения, к которым она приводит, требуют не только дальнейшей разработки методов раннего выявления и профилактики этого заболевания, но и глубокого понимания причин его возникновения. Изучение природы гипертонии на всех уровнях, в том числе на молекулярно-генетическом, является актуальной научной задачей, имеющей большое практическое значение для клинической медицины.

Факторы развития гипертонической болезни многочисленны и разнообразны. Несомненно однако, что развитие артериальной гипертонии, независимо от исходной причины, непременно затрагивает механизмы водно-солевого обмена, а значит, и физиологическую систему, непосредственно с ним связанную – ренин-ангиотензиновую (РАС). Именно вопросу функционирования генов, включенных в эту систему, посвящена диссертационная работа Федосеевой Ларисы Абрамовны.

Автором используется уникальная экспериментальная модель гипертонической болезни – линии крыс НИСАГ, полученной в Институте цитологии и генетики СО РАН путем многолетней направленной селекции, а также применением современных методов молекулярной генетики для анализа транскрипционной активности генов. Доказано, что крысы линии НИСАГ с наследственно обусловленной стресс-чувствительной артериальной гипертонией являются адекватной моделью стресс-зависимой формы гипертонической болезни человека. Уникальность использованной модели и определяет **оригинальность выполненной работы**

В качестве отправной точки исследования были использованы положения о наличии, наряду с центральной, локальных тканевых ренин-ангиотензиновой системы и двустадийного механизма развития гипертонической болезни. Исходя из этого, автором были исследованы особенности экспрессии генов ренин-ангиотензиновой системы в органах, связанных с регуляцией водно-солевого обмена (почках, надпочечниках, сердце и двух мозговых структурах – гипоталамусе и продолговатом мозге), у крыс НИСАГ двух возрастов в сравнении с крысами нормотензивной линии WAG. Кроме того, изучена экспрессия ключевых генов физиологических систем, влияющих на функции ренин-

ангиотензиновой системы: ферментов биосинтеза катехоламинов (*Th*) и простагландинов (*Cox-2*).

Научная новизна результатов исследования

Значимость для науки результатов исследования Федосеевой Ларисы Абрамовны заключается в получении новых знаний при проведении комплексного исследования транскрипционной активности генов тканевых ренин-ангиотензиновой систем, а также ферментов биосинтеза катехоламинов и простагландинов у молодых и взрослых крыс линий НИСАГ и WAG. Впервые показана повышенная транскрипционная активность гена *Ren* в почке, а также гена *Agt* в гипоталамусе и продолговатом мозге у молодых крыс НИСАГ. Показан дисбаланс экспрессии генов ангиотензиновых рецепторов в мозге и надпочечниках. У взрослых крыс НИСАГ показано снижение транскрипционной активности почечной РАС, а также рост экспрессии *Ace* в миокарде, характерный для сформировавшейся левожелудочковой гипертрофии. Новыми являются данные о повышении экспрессии ключевого гена системы биосинтеза катехоламинов – тирозин-гидроксилазы *Th*, у молодых крыс НИСАГ в гипоталамусе и у взрослых – в продолговатом мозге, а также о повышенном содержании мРНК *Cox-2* в гипоталамусе, продолговатом мозге и надпочечниках молодых крыс НИСАГ. Автором впервые обнаружен рост экспрессии гена *Th* в гипоталамусе, а также рост уровня мРНК *Cox-2* в почках и его снижение – в надпочечнике у крыс НИСАГ при водной депривации, тогда как у крыс WAG реакция на этот стресс проявляется в росте экспрессии *Agtr1a* в надпочечнике и *Ren* – в гипоталамусе.

Значимость для науки результатов работы определяется тем, что исследование Федосеевой Ларисы Абрамовны расширяет представления о патогенезе гипертонии. Автором показано, что изменения активности генов мозговой РАС в юном возрасте могут являться пусковым механизмом формирования гипертензивного статуса у крыс НИСАГ. Позднее РАС почки и мозговых структур демонстрируют сниженную активность, а контроль над артериальным давлением переходит к другим системам, о чем свидетельствует высокая экспрессия *Th* в продолговатом мозге, где локализованы барорецепторные нейроны. Также важно отметить, что относительно непродолжительная водная депривация вызывает в почках рост экспрессии не ренина, но *Cox-2*, что ведет к повышению секреции ренина, и увеличение содержания мРНК *Th* в гипоталамусе. Важным результатом для науки является также вывод о том, что развитие гипертензивного статуса у крыс НИСАГ связано с дисбалансом рецепторов ангиотензина как в мозге, так и в надпочечниках, и высоким уровнем экспрессии *Cox-2* в мозге молодых крыс НИСАГ.

В целом, полученные Федосеевой Л.А. данные хорошо согласуются с двухэтапным развитием гипертонической болезни и вносят новый вклад в понимание молекулярно-генетических механизмов перехода от транзиторной фазы к стойкому повышению артериального давления.

Помимо этого проведенное исследование опровергает высказанную ранее гипотезу о возможной мутации гена *Ngfr*, свойственной крысам линии SHR, и ее роли в формировании гипертензивного статуса у крыс НИСАГ.

Практическое значение результатов работы определяется тем, что они расширяет имеющиеся представления об участии генов локальных тканевых ренин-ангиотензиновой систем, и прежде всего ренин-ангиотензиновой системы мозга, в становлении гипертензивного статуса и могут стать основой для выявления молекулярных механизмов регуляции повышенного артериального давления. Кроме того, данные о различиях в экспрессии генов ренин-ангиотензиновой системы, а также генов *Th* и *Cox-2*, у гипертензивных и нормотензивных крыс могут быть полезны для дальнейших исследований с целью разработки новых фармакологических препаратов с гипотензивным действием.

Результаты и выводы диссертации Федосеевой Ларисы Абрамовны могут быть **рекомендованы** для продолжения работы по исследованию молекулярно-генетических механизмов развития гипертонии, в частности, с применением знаний о генах-мишенях стресс-зависимой гипертонии и возможного поиска их аллельных вариантов в популяциях человека. Интересными для практического использования являются результаты по определению экспрессии гена *Cox-2* в мозговых структурах и почках у крыс НИСАГ для изучения влияния на регуляцию артериального давления нестероидных противовоспалительных препаратов.

Общая оценка работы

Диссертация построена традиционно, она изложена на 262 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания использованных в работе материалов и методов, результатов исследований и их обсуждения, заключения, выводов, списка литературы, включающего 993 публикации (в том числе 32 отечественные). Работа содержит 48 рисунков и 3 таблицы.

Во введении дается обоснование научной необходимости проведения работы, ее актуальность, теоретическая и научно-практическая значимость. Формулируются цели и задачи. Конкретизируются основные положения, выносимые на защиту. Приводятся сведения об апробации результатов и публикациях автора.

Обзор литературы очень объёмен (более 100 страниц), хорошо структурирован, фактически состоит из 3 разделов и заключения. Основная часть обзора посвящена молекулярно-генетическим механизмам функционирования изучаемых систем – ренин-ангиотензиновой и (в меньшей степени) системе биосинтеза простагландинов. Особое внимание уделено гипотезе двустадийного развития гипертонической болезни.

В разделе «Материалы и методы» приводятся подробные сведения о применяемых автором методах исследования. Описан современный метод полуколичественного определения транскрипционной активности генов – ПЦР в реальном времени, а также другие используемые в работе молекулярно-генетические методы. Раздел дает хорошее представление о методических аспектах работы.

В третьей главе подробно излагаются результаты исследования. Изложение хорошо иллюстрировано рисунками и таблицами.

Полученные результаты подробно и всесторонне обсуждены в четвертой главе. В целом надо отметить, что автором получен интересный и оригинальный материал, касающийся участия и взаимосвязи генов, относящихся к РАС, а также к системам ферментов биосинтеза катехоламинов и простагландинов, в формировании и патогенезе гипертензивного состояния.

Выводы, сделанные автором, сформулированы корректно, и соответствуют полученным результатам и поставленным целям и задачам.

В третьей главе подробно излагаются результаты исследования. Изложение хорошо иллюстрировано рисунками и таблицами.

Полученные результаты подробно и всесторонне обсуждены в четвертой главе. В целом надо отметить, что автором получен интересный и оригинальный материал, касающийся участия и взаимосвязи генов, относящихся к ренин-ангиотензиновой системе, а также к системам ферментов биосинтеза катехоламинов и простагландинов, в формировании и патогенезе гипертензивного состояния.

Выводы, сделанные автором, сформулированы корректно, и соответствуют полученным результатам и поставленным целям и задачам.

Основные результаты диссертации представлены в 8 печатных работах, опубликованных в научных журналах из них 6 статей в отечественных рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК и 2 – в зарубежных, а также 6 статей в сборниках трудов конференций и 10 тезисов.

Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации и оформлен в соответствии с требованиями.

Общие замечания

Все сказанное позволяет высоко оценить диссертационную работу Федосеевой Ларисы Абрамовны, указав лишь на некоторые замечания и недочеты в оформлении диссертации. К замечаниям следует отнести очень большой объем литературного обзора, что можно оправдать масштабностью поставленных перед автором задач. Но в то же время в обзоре почти не уделено внимания одной из генных систем, изучаемых автором - системе ферментов биосинтеза катехоламинов и ее ключевому компоненту тирозин-гидроксилазе. В обсуждении результатов мы находим описание литературных источников, касающихся этой проблемы, но ощущается пробел этих сведений в главе 1, в заключение которой обосновывается цель исследования. К недочетам следует отнести отсутствие в автореферате списка сокращений использованных терминов и названий генов.

К вопросу, обсуждение которого хотелось бы услышать после знакомства с диссертацией, можно отнести вопрос о том, что выявленные корреляционные зависимости экспрессии исследованных генов у крыс НИСАГ по сравнению с нормотензивным контролем иногда представляются необъяснимыми. Видимо, следует делать оговорку, что уровень мРНК не всегда отражает в полной мере уровень белка, который может регулироваться модуляцией транскрипции РНК, стабильностью РНК, альтернативным сплайсингом РНК, трансляционной активностью и стабильностью белка.

Высказанные замечания не являются принципиальными и не влияют на общую положительную оценку работы.

Заключение

Подводя итог, можно заключить, что диссертация **Федосеевой Ларисы Абрамовны** представляет собой завершенную оригинальную научно-исследовательскую работу. Выводы и научные положения, сформулированные в диссертации, полностью соответствуют результатам исследования и аргументированы. Результаты отражены в достаточном количестве публикаций в реферируемых журналах, они апробированы и обсуждены на научных конференциях. По актуальности темы, полноте поставленных и решенных задач, совокупности новых научных результатов и научно-практической значимости представленная диссертационная работа отвечает требованиям ВАК России, предъявляемым к диссертациям на соискание степени кандидата наук (п. № 9 «Положения

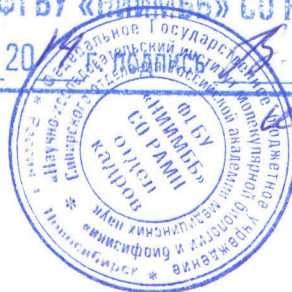
о порядке присуждения учёных степеней)), а ее автор, Федосеева Л.А, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Отзыв на диссертацию и автореферат обсужден на расширенном заседании
Ученого совета НИИ МББ 24 марта 2014 г., протокол N3

Руководитель лаборатории биохимии
чужеродных соединений Федерального
государственного бюджетного
учреждения науки «Научно-
исследовательский институт
молекулярной биологии и биофизики»
СО РАМН
Доктор биологических наук, профессор

«24» марта 2014 г.

А.Ю. Гришанова



В. И. Ивлев
В. И. Ивлев