

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук, Гамбаряна Степана Петровича на диссертационную работу Бурдина Дмитрия Валерьевича «Физиологические и биохимические эффекты сверхэкспрессии аланин-глиоксилат аминотрансферазы 2», представленную в диссертационный совет Д 002.020.01 при Институте физиологии им. И. П. Павлова РАН на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – «физиология»

Актуальность темы диссертации

Основной причиной смертности в России, как и во многих других странах, являются осложнения сердечно-сосудистых заболеваний. Механизмы их развития до сих пор нуждаются в изучении. Исследование Бурдина Д. В. относится к одному из направлений такого поиска, заключающегося в исследовании путей дизрегуляции сосудистого тонуса у таких пациентов, и одной из кандидатных молекул на роль триггера такого нарушения является асимметричный диметиларгинин (ADMA). В последние годы значительное внимание исследователей привлекает потенциальная роль ADMA в развитии сердечно-сосудистых заболеваний - хронической гипертензии, ишемии сердца, атеросклероза, сердечной недостаточности, а также почечной недостаточности, сахарного диабета и многих других. Несмотря на то, что существование корреляции между повышением уровня ADMA в плазме крови и развитием эндотелиальной дисфункции, а также сосудистых осложнений было подтверждено во многих эпидемиологических и экспериментальных исследованиях, причинно-следственная связь повышения ADMA и развития сердечно-сосудистых заболеваний остается не доказанной, а фундаментальные механизмы, лежащие в основе данных процессов - неизученными до сих пор. Для того, чтобы с точностью ответить на вопросы о физиологической роли ADMA в организме, требуется создание

новых биологических моделей. В этом плане диссертационное исследование Бурдина Д. В., посвященное созданию и характеристике новой линии трансгенных мышей, сверхэкспрессирующих один из ферментов метаболизма ADMA - аланин-глиоксилат аминотрансферазу 2, является весьма актуальным и своевременным в области современной физиологии и биохимии. С одной стороны, данная модель может использоваться в целях разработки путей коррекции уровня ADMA у различных пациентов, а, с другой стороны, может открыть новые грани функционирования ADMA и белка AGXT2 у человека и животных.

Личный вклад соискателя

Соискателем самостоятельно проведен анализ научной литературы по теме исследования и обоснована ее актуальность; сформулированы цели и задачи исследования; создан дизайн экспериментов и проведены исследования; написана и оформлена работа; подготовлены публикации и доклады по теме диссертации.

Научная новизна результатов исследования

В диссертации впервые проведено исследование роли аланин-глиоксилат аминотрансферазы 2 человека на модели трансгенной сверхэкспрессии у мышей. Основные результаты работы являются безусловно новыми и не имеют аналогов в литературе. Это относится в первую очередь к данным о влиянии трансгенной сверхэкспрессии AGXT2 на метаболизм ADMA и эндотелиальную функцию у мышей. До настоящего времени единственным исследованием, подтвердившим роль AGXT2 человека в метаболизме ADMA *in vivo*, являлась работа Rodionov и соавторов, методической основой которой послужила кратковременная сверхэкспрессия AGXT2 с помощью аденовирусной инфекции. В результате проведенных автором исследований впервые удалось проанализировать результат длительной и стабильной сверхэкспрессии AGXT2 человека. Стоит особенно

отметить, что модели для изучения функции мышиногo AGXT2 были предложены ранее другими группами исследователей (в частности, были созданы нокаутные по AGXT2 мыши), однако, созданная автором модель для исследований роли человеческой изоформы AGXT2 описана впервые.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты исследования, полученные диссертантом, безусловно, расширяют представления о ферментативных механизмах регуляции гомеостаза NO в организме, ключевая роль в которых принадлежит ADMA и метаболизирующим его ферментам (в частности, AGTX2). Характеристика линий мышей с трансгенной сверхэкспрессией AGXT2 человека, выполненная в рамках данной работы, открывает возможности для изучения новых аспектов физиологических функций AGXT2. Предложенная автором трансгенная модель позволяет не только более детально изучить функции фермента AGXT2, но и дополнить понимание биохимических путей метаболизма ADMA и SDMA. Исследования в данном направлении позволяют разрабатывать принципиально новые фармакологические подходы для разработки лекарственной терапии, способной модулировать активность AGXT2 и тем самым влиять на уровни ADMA, SDMA и NO в крови пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями.

Апробация результатов исследования

Основные результаты работы опубликованы в печати. По теме диссертации вышло в печать 3 статьи в рецензируемых журналах, входящих в список ВАК, и 5 тезисов докладов. Результаты исследований неоднократно представлены на международных конференциях.

Характеристика содержания диссертации

Кандидатская диссертация Бурдина Д. В. имеет классическую структуру и состоит из следующих разделов: Введение, Обзор литературы, Материалы и

методы, Результаты, Обсуждение, Заключение, Выводы, Список сокращений и условных обозначений, Список литературы, Приложение. Диссертация изложена на 152 страницах машинописного текста, иллюстрирована 35 рисунками и 3 таблицами. Список литературы содержит 309 источников.

Во вводной части четко представлены цель и задачи исследования и приведено их обоснование.

В Обзоре литературы описаны механизмы регуляции образования оксида азота NO и значение данного метаболита. Особое внимание уделено участию ADMA в регуляции выработки NO и другим возможным функциям данной аминокислоты. Рассмотрены современные сведения о строении фермента AGXT2 и механизм реакций с его участием. Представленный обзор написан достаточно лаконично и ясно, его интересно читать, и свидетельствует о сильных критических и аналитических свойствах автора.

Методы, использованные в диссертации полностью соответствуют поставленным задачам.

В разделах 3, 4 и 5, посвященным изложению результатов исследования приводятся данные о физиологических и биохимических эффектах сверхэкспрессии аланин-глиоксилат аминотрансферазы человека у мышей. Показано, что усиление деградации ADMA с помощью AGXT2 человека приводит к улучшению эндотелиальной функции у мышей. Получены данные о том, что сверхэкспрессия AGXT2 человека не приводит к изменениям параметров кровяного давления у мышей. Особенно интересными представляются результаты о влиянии AGXT2 на тканевой метаболизм ADMA и SDMA. Степень обоснованности и достоверности основных результатов диссертации не вызывает сомнений.

В обсуждении и заключении автор произвел обобщение полученных данных и оценку результатам исследования. Выводы, представленные в диссертации отражают основные результаты проведенного исследования и полностью соответствуют поставленным задачам.

Материал диссертационной работы изложен грамотным научным языком, автор демонстрирует хорошее владение тематикой работы, текст иллюстрирован достаточным количеством таблиц и рисунков.

Автореферат диссертации полностью отражает основные положения диссертации, содержание и выводы работы.

Отмечая высокий уровень проделанной автором работы, актуальность темы исследования, обоснованность и научную новизну полученных результатов, реализацию поставленных целей и задач, хотелось бы, тем не менее, в плане дискуссии, задать автору следующие вопросы:

1. Автор в проведенных исследованиях акцентирует внимание на роли AGXT2 в метаболизме ADMA, однако известны еще несколько других субстратов для данного фермента (в частности, бета-аминоизобутират и другие). Проводились ли исследования в данных направлениях на полученной трансгенной модели, и если да, то какие результаты получены?
2. Какие исследования на полученной трансгенной модели планируются автором в дальнейшем?

Заключение

Диссертационное исследование Бурдина Дмитрия Валерьевича на тему: «Физиологические и биохимические эффекты сверхэкспрессии аланин-глиоксилат аминотрансферазы 2» является законченным научно-квалификационным трудом.

По своей актуальности, новизне, объему полученных данных и научно-практической значимости диссертация Бурдина Дмитрия Валерьевича «Физиологические и биохимические эффекты сверхэкспрессии аланин-глиоксилат аминотрансферазы 2» полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук согласно п. № 9 «Положения о присуждении ученых

степеней» ВАК РФ, утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 года, а ее автор заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Официальный оппонент

Доктор биологических наук, главный научный сотрудник
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
Адрес: 194223, Российская Федерация, Санкт-Петербург, пр. М. Тореза, д. 44
Телефон: +79218811759
Электронная почта: gambaryan.stepan@gmail.com

«15» августа 2018 года

Гамбарян Степан Петрович

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова Российской академии наук

Кандидат биологических наук

Гальперина Е. И.



Подпись руки Гальперина Е.И.
удостоверяю
зам.канцелярией
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института эволюционной
физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова
Российской академии наук

Гальперина Е.И.
(Инициалы Е.И.)
15.08.2018