

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Петрова Максима Николаевича «Влияние экзогенных и эндогенных эффекторов на конформацию ангиотензин-превращающего фермента человека» на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.04 – биохимия, 03.01.06 – биотехнология (в том числе – бионанотехнологии).

Ангиотензин-превращающий фермент (АПФ) – это фермент, являющийся одним из основных факторов системы регуляции кровеносного давления. Он превращает олигопептид ангиотензин-I в ангиотензин-II, который участвует в регуляции сокращения кровеносных сосудов. АПФ также нейтрализует действие брадикинина, расширяющего кровеносные сосуды. Вследствие вышесказанного, ингибиторы АПФ, снижающие его активность, являются в настоящее время широко распространенными препаратами при лечении сердечно-сосудистой системы. Однако действие ингибиторов на АПФ может зависеть от ряда факторов, которые необходимо учитывать при их применении в терапии. Поэтому целью данной работы было изучение изменения конформации АПФ в результате его взаимодействия с ингибиторами различной структуры и зависимость ингибирования АПФ от его конформации (например, измененной вследствие патологии). В качестве основного инструмента для изучения конформации АПФ использовали панель моноклональных антител к различным участкам АПФ.

В первой части работы с помощью панели моноклональных антител к АПФ было изучено изменение конформации отдельных участков АПФ в результате связывания ингибиторов разной природы с однодоменными и двудоменными рекомбинантными АПФ, а также с АПФ в различных биологических жидкостях. Было показано, что ингибиторы разной структуры могут вызывать разные конформационные изменения АПФ. Было показано также, что восстановление S-S мостиков в АПФ приводит к изменению его конформации и частичной потере активности фермента. Важным результатом является обнаруженный факт, что используемый в медицине ингибитор АПФ эналаприлат не меняет конформацию АПФ с восстановленными дисульфидными мостиками и не оказывает необходимого терапевтического действия на такой фермент, что должно учитываться при назначении лечения больным с таким АПФ.

Во второй части работы было проведено исследование конформации и активности АПФ у больных уреимией, а также других больных по сравнению со здоровыми донорами. Был обнаружен интересный и практически значимый факт, что количество АПФ с измененной конформацией статистически достоверно выше у больных, чем у здоровых доноров. Также было показано, что применяемые в медицине ингибиторы телпротид и эналаприлат значительно хуже ингибируют конформационно измененный АПФ у больных уреимией, чем АПФ здоровых доноров. В результате проделанной работы был предложен подход для выявления пациентов с АПФ невосприимчивым к ингибиторам. В работе был предложен также оригинальный способ фенотипирования АПФ пациентов с использованием моноклональных антител и синтетических субстратов.

Основным биохимическим методом, использованным в работе является иммуно-ферментный анализ. К сожалению, в автореферате отсутствует подробная методическая часть и поэтому ничего нельзя сказать о том, какие методы были использованы для выделения ферментов и определения их активности. Хотелось бы также видеть, какие уравнения были применены при расчете кинетических кривых Рисунков 4 и 5. В то же время следует отметить, что в работе был использован ряд современных программ для расчета динамики структуры АПФ при различных условиях, что сильно украсило работу и позволило подтвердить сделанные на основе экспериментальных данных выводы.

Замечаний по результатам работы и их интерпретации у меня нет. Есть одно общее замечание, касающееся написания работы. Целью данной работы и основными результатами проведенных экспериментов является изучение изменения конформации АПФ под воздействием различных факторов. Инструментом определения конформаций АПФ являются моноклональные антитела. Однако в автореферате часто встречается обратный порядок описания задач, результатов и выводов, например в выводе №1 говорится что «Связывание ингибиторов АПФ изменяет эффективность связывания моноклональных антител с N- и С- доменами ферментов, то есть индуцирует конформационные изменения...». Правильнее было бы написать, что связывание индуцирует конформационные изменения (что собственно и является выводом работы), что было показано с помощью антител.

В заключении следует отметить, что Петровым М.Н. проделана очень большая и тщательная работа, посвященная изучению влияния ингибиторов на конформацию и активность АПФ как в модельных системах, так и в крови больных. Полученные им результаты и выводы, сделанные на их основании, не вызывают сомнений. Актуальность и новизна полученных результатов бесспорна. Результаты работы, безусловно, имеют практическую значимость. По теме диссертации опубликовано 8 работ, из них 2 в рецензируемых журналах, входящих в список ВАК.

Диссертационная работа Петрова М. Н. полностью отвечает всем требованиям Положения о порядке присуждения степеней, принятого ВАК при Минобрнауки РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а М.Н. Петров заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.04 – биохимия, 03.01.06 – биотехнология (в том числе – бионанотехнологии).

Митькевич Ольга Владимировна,
кандидат химических наук,
старший научный сотрудник лаборатории
Молекулярной генетики Института биохимии им. А.Н. Баха,
Федерального исследовательского центра
«Фундаментальные основы биотехнологии» РАН,
Москва, Ленинский проспект 33

mitkevich@inbi.ras.ru
(495) 954-40-97

