

ОТЗЫВ

**официального оппонента Ковалева Леонида Ивановича
на диссертационную работу Зориной Елены Сергеевны
«Протеоформное профилирование ткани печени в норме и при
гепатоцеллюлярном раке с использованием двумерного гель-
электрофореза и масс-спектрометрии», представленную на соискание
ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. –
«Биохимия»**

Актуальность исследования. Представленная работа посвящена актуальной и важной проблеме биохимии – изучению протеоформ в ткани печени человека, что имеет ключевое значение для ранней диагностики гепатоцеллюлярного рака (ГЦР). ГЦР является одной из наиболее распространённых и трудно диагностируемых опухолей печени, что делает поиск новых биомаркеров и методов диагностики крайне востребованным. Актуальность исследования обусловлена необходимостью разработки более чувствительных и специфичных диагностических подходов, а также углублённого изучения молекулярных механизмов канцерогенеза на уровне белковых модификаций. Автором аргументированно обоснована необходимость комплексного подхода к изучению протеоформ при ГЦР с применением комбинации двумерного гель-электрофореза (2DE) и жидкостной хромато-масс-спектрометрией с ионизацией электрораспылением (LC-ESI-MS/MS). Представленные в работе результаты обладают высокой степенью новизны и направлены на поиск специфических протеоформ, которые могут стать основой для новых прогностических и диагностических маркеров ГЦР.

Научная новизна. Диссертация Зориной Е.С. представляет собой оригинальное исследование, направленное на выявление специфических протеоформных паттернов в нормальной и опухолевой ткани печени человека. Автором предложен комплексный подход, включающий

комбинацию 2DE и МС высокого разрешения. Результатом работы явилось выявление 52 белков со специфичными протеоформными паттернами, которые и могут стать основой для разработки новых биомаркеров ГЦР. Следует отметить, что особую ценность представляют детально описанные методологические аспекты работы, а именно:

1. Сравнение панорамного и секционного протеомного профилирования для повышения точности и полноты идентификации белков;
2. Выделение потенциальных прогностических маркеров ГЦР на основе изменений в их протеоформных паттернах.

Теоретическая и научно-практическая значимость. Результаты диссертационной работы имеют как фундаментальное, так и прикладное значение. Детализированное изучение протеоформ открывает новые возможности для разработки методов диагностики и прогноза ГЦР. На практике представленный подход может быть использован для выявления белковых сигнатур, специфичных для патологических состояний печени, а также в качестве инструмента для дальнейших молекулярных исследований.

Методология исследования основана на современных биохимических и биоинформационных методах. Автором соблюдены все принципы достоверности, включая использование адекватных статистических методов обработки данных, а также международных баз данных для валидации полученных результатов. Применение алгоритмов оценки ложноположительных результатов (FDR) и подхода «мишень-приманка» подтверждает надежность выводов работы. Методика исследования заслуживает высокой оценки, поскольку автор использует передовые и комбинированные подходы для глубокого анализа протеоформ.

В разделе «Результаты и обсуждение» автор последовательно и глубоко анализирует полученные данные, выделяя ключевые изменения в паттернах протеоформ. Автором выполнено панорамное и секционное протеомное профилирование белков нормальной ткани печени, опухолевой ткани пациентов с ГЦР и клеточной линии HepG2 и показано, что

секционное профилирование значительно увеличивает количество идентифицированных белков по сравнению с панорамным подходом. Важным результатом является доказательство, что протеоформные паттерны позволяют различать нормальную и опухолевую ткань с высокой степенью специфичности. Особое внимание уделено белковым сигнатурам, которые имеют прогностическую ценность для диагностики и мониторинга ГЦР.

Полнота освещения результатов диссертации в печати. По теме диссертации автором опубликовано 15 работ, из которых 5 статей в рецензируемых научных журналах и 10 публикаций в трудах конференций. Содержание автореферата полностью соответствует основным положениям диссертации.

Структура и содержание диссертационной работы. Диссертация изложена на 126 страницах, содержит 9 таблиц и 26 рисунков. Она имеет логичную и чёткую структуру, включающую введение, литературный обзор, материалы и методы, результаты и обсуждение, выводы и приложения. Библиографический список включает 158 источников, что свидетельствует о хорошем уровне проработки актуальных научных публикаций и обоснованности выбранного направления исследования.

В литературном обзоре автор демонстрирует глубокие знания современных представлений о протеомике, транскриптомике и их интеграции в биохимические исследования. Рассматриваются особенности протеоформ, их роль при различных заболеваниях и значимость для диагностики ГЦР. Особое внимание уделено современным методам исследования белков, включая жидкостную хромато-масс-спектрометрию с ионизацией электрораспылением и 2DE. Обзор структурирован, логичен и отражает актуальные достижения в данной области.

Вопросы и замечания. Смысловая часть работы не вызывает никаких сомнений в ее очень высоком качестве, однако к ней имеются отдельные замечания по оформлению. В частности, при описании образцов тканей в

автореферате указано «здоровый донор ткани печени (образец ткани отобран посмертно), а также три пациента с гистологически подтвержденным диагнозом – гепатоцеллюлярный рак», что несколько некорректно. Исследовалась ткань, а не пациенты. В тексте диссертации все сформулировано верно. Кроме этого, описание образцов ткани неполное. На стр. 79 диссертации указано, что «образцы, полученные от пациентов с ГЦР были заражены вирусами гепатита Б и С.», что не отражено в материалах и методах, хотя это есть в тексте диссертации и приложении.

Очевидно, что все отмеченные недостатки рассматриваемой диссертации относятся к её оформлению и никак не влияют на общую высокую оценку выполненной работы.

По некоторым результатам хотелось бы получить более расширенное обоснование. В частности, опухолевые образцы использовались после хранения в стабилизирующем растворе RNeasy. При анализе в малигнизированной ткани определялось большее количество белков, чем в контроле. Но концентрация солей в стабилизирующем растворе настолько велика, что вследствие осмотического шока клетки просто лопаются и цитозольные белки переходят в раствор, что должно привести к уменьшению детектируемых белков. Чем может быть вызвано увеличение детектируемых белков в злокачественной ткани по сравнению с контролем? Вероятно тем, что она более гетерогенна, вследствие вирусного поражения и последующей малигнизации или другими причинами.

Заключение. Таким образом, диссертационная работа Зориной Елены Сергеевны «Протеоформное профилирование ткани печени человека в норме и при гепатоцеллюлярном раке с использованием двумерного гелевого электрофореза и масс-спектрометрии» является завершённой научно-исследовательской работой, содержащей новые фундаментальные и практические результаты. Работа выполнена на высоком научном уровне и полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке

присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор Зорина Елена Сергеевна, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. – «Биохимия».

Официальный оппонент:

Ведущий научный сотрудник лаборатории структурной биохимии белка федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской Академии наук»

Специальность: 1.5.4. – «Биохимия»

Почтовый адрес: 119071, г. Москва, Ленинский пр-т, д. 33 стр. 2

Телефон: (916) 425-60-58

Адрес электронной почты: kovalyov@inbi.ras.ru

Доктор биологических наук,
доцент,



Леонид Иванович Ковалев

Подпись Л.И.Ковалева заверяю

Ученый секретарь Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской Академии наук»

кандидат биологических наук



Александр Федорович Орловский

21.01.2022.