

«УТВЕРЖДАЮ»

ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России,
д.б.н., член-корреспондент РАН

Генеральный директор

М.А. Лагарькова

«24» сентября 2025 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу Е.С. Зориной

**«ПРОТЕОФОРМНОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ ТКАНИ ПЕЧЕНИ ЧЕЛОВЕКА В
НОРМЕ И ПРИ ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОМ РАКЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
ДВУМЕРНОГО ГЕЛЬ-ЭЛЕКТРОФОРЕЗА И МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальностям 1.5.4 – «Биохимия».**

Актуальность темы диссертационной работы

Диссертационная работа Зориной Е.С. посвящена актуальной проблеме современной биохимии и молекулярной биологии – изучению протеоформного состава тканей печени в норме и при гепатоцеллюлярном раке (ГЦР). Под протеоформой понимается уникальная форма белка, которая отличается от других форм того же белка составом аминокислотной последовательности, наличием или отсутствием посттрансляционных модификаций или другими структурными особенностями. Таким образом, исследование протеоформ, их разнообразия и функциональной роли является важным направлением в понимании молекулярных механизмов развития онкологических заболеваний, а также в поиске новых биомаркеров для диагностики и прогнозирования течения рака.

Научная новизна работы

В диссертации предложен и успешно применен специальный подход к протеомному профилированию – секционное протеомное профилирование, которое сочетает двумерный гель-электрофорез с последующей масс-спектрометрической детекцией высокого разрешения и построением трехмерных карт для каждой протеоформы. Этот метод позволяет значительно увеличить количество идентифицируемых белков и протеоформ по сравнению с традиционным панорамным протеомным профилированием. Автором впервые проведен сравнительный анализ протеоформных паттернов в нормальной ткани печени, клеточной линии HepG2 и тканях пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой, что позволило выявить специфические белковые сигнатуры, характерные для злокачественных клеток печени.

Научная и практическая значимость

Подход, применяемый в данной работе имеет как научную, так и потенциальную практическую значимость. Используемый метод секционного протеомного профилирования позволяет не только детально изучать протеоформный состав биологических образцов, но и выявлять изменения, связанные с патологическими процессами, такими как канцерогенез. Полученные данные могут быть использованы для разработки новых диагностических и

прогностических маркеров гепатоцеллюлярной карциномы, а также для понимания молекулярных механизмов, лежащих в основе этого заболевания.

В ходе проведенного исследования автором выделено 52 белка с измененными протеоформными паттернами, которые могут рассматриваться как потенциальные биомаркеры гепатоцеллюлярного рака. Эти результаты открывают новые перспективы для дальнейших исследований в области онкологии и персонализированной медицины, разработки экономически доступных рутинных методов скрининга для данного заболевания.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключений

Научные положения, выводы и заключения, представленные в диссертации, являются обоснованными и достоверными, что подтверждается использованием современных методов исследования, тщательной экспериментальной работой и статистической обработкой данных. Автор применил комбинацию двумерного гель-электрофореза (2DE) и масс-спектрометрии высокого разрешения (LC-ESI-MS/MS), что позволило детально изучить протеоформные профили тканей печени в норме и при гепатоцеллюлярном раке (ГЦР). Для повышения достоверности результатов использовались методы биоинформатического анализа, включая подход «мишень-приманка» (target-decoy) и оценку ложноположительных результатов (FDR) с порогом 1%. Кроме того, работа была выполнена с учетом биологических и технических повторов, что обеспечило воспроизводимость данных. Полученные результаты согласуются с литературными данными и подтверждаются идентификацией известных биомаркеров гепатоцеллюлярного рака, таких как альфа-фетопроtein (AFP) и глипикан-3 (GPC3), а также выявлением новых потенциальных маркеров. Таким образом, научные выводы и заключения диссертации основаны на надежных экспериментальных данных и соответствуют современным стандартам протеомных исследований.

Полнота освещения положений и результатов диссертации в публикациях

Результаты и научные положения, изложенные в диссертации, нашли отражение в 15 публикациях автора, включая 5 статей в рецензируемых научных журналах и 10 работ в трудах конференций. В этих публикациях подробно освещены ключевые аспекты исследования, такие как методология протеоформного профилирования, результаты сравнительного анализа протеомных профилей нормальной и опухолевой ткани печени, а также идентификация потенциальных биомаркеров гепатоцеллюлярного рака (ГЦР).

Структура и содержание диссертационной работы

Диссертационная работа Зориной Елены Сергеевны имеет классическую структуру, соответствующую требованиям к научным исследованиям. Работа состоит из следующих последовательно представленных частей: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение, заключение, выводы, список литературы и приложений. Каждая часть диссертации направлена на раскрытие ключевых аспектов исследования и обеспечивает последовательное изложение материала.

1. Введение

Во введении обоснована актуальность темы исследования, сформулированы цель и задачи работы, указаны научная новизна, теоретическая и практическая значимость. Автор подчеркивает важность изучения протеоформных профилей для понимания молекулярных механизмов гепатоцеллюлярного рака (ГЦР) и поиска новых биомаркеров.

2. Обзор литературы

В первой главе представлен подробный анализ современных научных данных по теме исследования. Рассмотрены следующие аспекты:

- Понятие протеоформ и их роль в биологических процессах.
- Особенности протеома печени человека в норме и при патологии.
- Современные методы диагностики ГЦР, включая биомаркеры и молекулярно-генетические подходы.
- Методы исследования белков и протеоформ, такие как масс-спектрометрия, двумерный гель-электрофорез и биоинформатический анализ.

Глава демонстрирует глубокое понимание автором предметной области и служит теоретической основой для дальнейшего исследования.

3. Материалы и методы

Вторая глава посвящена описанию материалов и методов, использованных в работе. Автор подробно описывает:

- Характеристику образцов (клеточная линия HepG2, нормальная ткань печени, опухолевая и контрольная ткань печени пациентов с ГЦР).
- Методы экстракции белков, подготовки проб и проведения двумерного гель-электрофореза.
- Протоколы масс-спектрометрического анализа (LC-ESI-MS/MS) и биоинформатической обработки данных.

Методологическая часть работы изложена четко и подробно, что позволяет воспроизвести эксперименты.

4. Результаты и обсуждение

Третья глава представляет собой основную часть диссертации, где изложены результаты исследования и их интерпретация. Глава включает:

- Протеомное профилирование нормальной ткани печени и клеточной линии HepG2.
- Анализ протеоформных паттернов в опухолевой и контрольной ткани печени пациентов с ГЦР.
- Сравнительный анализ данных, полученных с помощью панорамного и секционного протеомного профилирования.
- Выявление потенциальных биомаркеров ГЦР и анализ их посттрансляционных модификаций.

Результаты представлены в виде таблиц, графиков и диаграмм, что делает их наглядными и легко интерпретируемыми. Автор детально обсуждает полученные данные, связывая их с литературными источниками.

5. Заключение

В заключительной главе подведены итоги исследования, сформулированы основные выводы и обозначены перспективы дальнейших исследований. Автор подчеркивает значимость полученных результатов для разработки новых диагностических и терапевтических подходов.

6. Выводы

В разделе представлены краткие и четкие выводы, отражающие основные результаты работы. Выводы соответствуют поставленным задачам и подтверждают достижение цели исследования.

7. Список литературы

Список литературы включает 158 источников, среди которых современные научные статьи, обзоры и монографии.

8. Приложения

Приложения содержат дополнительную информацию, которая не вошла в основную часть работы, но важна для понимания исследования. Включают:

- Описание образцов ткани печени.
- Полный список идентифицированных белков.
- Двумерные электрофореграммы.
- Сравнение данных с базой данных Proteome Plasma Database (PPD).
- Примеры протеоформных паттернов.

Структура диссертации логична и последовательна, а содержание отражает все этапы исследования: от теоретического обоснования до практических результатов. Работа демонстрирует достаточный уровень научной проработки и соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Вопросы и замечания к диссертационной работе

Диссертационная работа Зориной Елены Сергеевны представляет собой полноценное исследование в области протеомики и молекулярной онкологии. Однако, как и любая научная работа, она может быть подвергнута критическому анализу. Ниже приведены возможные вопросы и замечания:

Вопросы

1. Методологические аспекты:
 - Какова воспроизводимость результатов при использовании секционного протеомного профилирования?
 - Почему для анализа были выбраны именно эти методы (2DE и LC-ESI-MS/MS), а не другие современные подходы, такие как top-down протеомика?
2. Статистическая обработка данных:
 - Были ли учтены поправки на множественное тестирование при статистическом анализе данных?
3. Биологические образцы:
 - Были ли учтены возможные различия в протеомных профилях, связанные с этиологией ГЦР (например, вирусный гепатит В/С, алкогольное поражение печени)?
4. Потенциальные биомаркеры:
 - Каков механизм участия выявленных биомаркеров (например, S100A8, PON2) в патогенезе ГЦР?
 - Планируется ли дальнейшая валидация этих биомаркеров на более крупной выборке пациентов?
5. Посттрансляционные модификации (ПТМ):
 - Какие методы были использованы для подтверждения наличия ПТМ (например, фосфорилирование, ацетилирование)?
 - Какова функциональная роль выявленных ПТМ в контексте развития ГЦР?

Замечания

1. Ограниченная выборка пациентов:
 - В работе использованы образцы от трех пациентов с ГЦР, что может быть недостаточным для получения статистически значимых выводов. Увеличение выборки могло бы повысить достоверность результатов.
2. Отсутствие функциональных исследований:

- Работа сосредоточена на идентификации и количественном анализе белков и протеоформ, но не включает функциональные исследования (например, *in vitro* или *in vivo* эксперименты) для подтверждения роли выявленных биомаркеров в патогенезе ГЦР.
- 3. Недостаточная детализация по ПТМ:
 - Хотя автор упоминает о выявленных ПТМ, их функциональная значимость и влияние на активность белков обсуждаются недостаточно подробно.
- 4. Сравнение с другими видами рака:
 - В работе не рассматривается, насколько специфичны выявленные биомаркеры для ГЦР. Было бы полезно сравнить протеоформные профили при ГЦР с другими видами рака (например, колоректальным раком или раком поджелудочной железы).
- 5. Ограничения методов:
 - Автор не обсуждает ограничения использованных методов, таких как 2DE (например, низкая чувствительность для высокомолекулярных или гидрофобных белков) и масс-спектрометрии (например, сложность идентификации низкопредставленных белков).

Вопросы и замечания, представленные выше, не умаляют значимости проведенного исследования, но указывают на возможные направления для дальнейшего развития работы.

Заключение

Таким образом, диссертация Зориной Елены Сергеевны на тему «ПРОТЕОФОРМНОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ ТКАНИ ПЕЧЕНИ ЧЕЛОВЕКА В НОРМЕ И ПРИ ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОМ РАКЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДВУМЕРНОГО ГЕЛЬ-ЭЛЕКТРОФОРЕЗА И МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ», представляет собой оригинальный, самостоятельный и законченный научный труд, изложенный в традиционной форме полнотекстовой диссертации. Работа выполнена на высоком методическом уровне, содержит четко сформулированные цели и задачи, а также обоснованные выводы. Результаты исследования подтверждены экспериментальными данными и опубликованы в рецензируемых научных изданиях. Автором представлено 15 публикаций, включая 5 статей в журналах, индексируемых в международных базах данных. Диссертация соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (в актуальной редакции), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 – Биохимия.

Отзыв заслушан, обсужден и утвержден на семинаре отдела постгеномных технологий ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России (протокол №1 от 23.01.2025 г.)

Кандидат биологических наук (03.01.04 — Биохимия, 03.01.03 — молекулярная биология),
заведующий лабораторией протеомного анализа
Горбачев Алексей Юрьевич 

«27» января 2025 г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства»

Почтовый адрес: 119435, г. Москва ул. Малая Пироговская дом 1а, ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России

E-mail: niifhm@fmbamail.ru

Телефон: +7 (499) 246-44 09

Подпись Горбачева А.Ю. заверяю:

Начальник отдела кадров

ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России,

Васильева Наталья Алексеевна

