

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Албаковой Заремы, «Протективные и иммуномоделирующие эффекты белков теплового шока в лимфоме» представляемую на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7 – Аллергология и иммунология

Молекулярные шапероны представляют собой часть системы клеточного протеостаза, обеспечивающего живой клетке корректный фолдинг клеточных белков и возможность их правильного функционирования. В клетках большого количества опухолей различного гистогенеза уровень молекулярных шаперонов повышен, что способствует более быстрой пролиферации опухолевых клеток, ускоренному переходу к метастазированию, и более высокой резистентности к действию противоопухолевой терапии. Молекулярные шапероны из семейств Hsp90, Hsp70 и Hsp27 вмешиваются в сигнальные пути апоптоза практически на всех его этапах, задерживая развитие процесса и давая шанс быстро пролиферирующей опухолевой клетке поделиться и избежать действия противоопухолевого препарата. Именно поэтому довольно большое число научных групп занимается поиском ингибиторов молекулярных шаперонов, и в настоящее время примерно 13 ингибиторов Hsp90 проходят клинические испытания, и сотни пациентов уже получили лечение в процессе этих испытаний. В свете вышесказанного актуальность работы З.Албаковой не вызывает сомнения.

В работе рассматриваются протективные и иммуномодулирующие свойства белков теплового шока в патогенезе лимфом, показаны интересные факты, в частности проведен анализ сигнатуры шаперонов в биологических жидкостях онкологических пациентов, имеющий диагностическую ценность, и это обуславливает и новизну, и практическую ценность диссертационной работы.

Поставленные диссертантом цель и задачи исследования соответствуют названию работы и ее содержанию. Выносимые на защиту положения аргументированы и логично вытекают из материалов диссертации. Выводы диссертационной работы обоснованы и полностью соответствуют поставленным задачам и полученным результатам. Исследование выполнено с соблюдением этических норм научных исследований. В целом, исследование диссертанта производит благоприятное впечатление, но как и всякая работа, оно не лишено недостатков, на которых я остановлюсь по мере детального анализа работы.

Диссертационная работа Албаковой построена по общепринятому образцу, состоит из списка сокращений, введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы», в которой описаны примененные автором методики, главы «Результаты» и «Обсуждение»,

полученных результатов, выводов, благодарностей, списка использованной литературы и трех приложений. Диссертация изложена на 87 страницах машинописного текста, содержит 2 таблицы и 18 рисунков, библиографический указатель содержит 292 в англоязычной литературе.

В главе «Литературный обзор» автор подробно рассматривает классификацию белков теплового шока, связь HSP с клетками иммунной системы: макрофагами и дендритными клетками, NK-клетками, Т-клетками, В-клетками, и также разбирает роль HSP в лимфомах и иммуномодулирующую функцию HSP в онкологических патологиях, включая HSP-вакцины и связь HSP с иммунными контрольными точками. В целом, глава «Литературный обзор» дает довольно полное представление о современном состоянии проблемы, неплохо написана и хорошо иллюстрирована.

В главе «Материалы и методы», представлено описание методов, которые автор использовала в диссертационной работе. Список методов выглядит достаточно современно, и применение этих методов позволяет провести глубокие исследования и получить убедительные результаты.

Глава «Результаты» начинается с подробного описания получения рекомбинантного Hsp70, который предполагался для исследования роли Hsp70 в модулировании активности иммунных клеток. Однако, автор отказалась от этой затеи, основываясь на статье Rigo et al, 2020, из которой был сделан вывод, что Hsp70, экспрессированный в *E.coli* менее «иммунный», чем он же, но полученный из культуры *Pichia pastoris*. Надо, однако, отметить, что авторы указанной статьи рассматривали посттрансляционные модификации, экспрессированного в про- и эукариотных клетках бактериального аналога Hsp70, DnaK. У DnaK и Hsp70 всего 50% гомологии, и в основном она приходится на N-терминальную часть молекулы (NBD в терминологии диссертанта), и аргументы, приведенные автором, не полностью обоснованы. Кроме того, процедура выделения Hsp70 на никелевой колонке, не очень удачная идея, поскольку, будучи шапероном, Hsp70 находится в комплексе с множеством клеточных белков, в такой «связанной» форме садится на никелевую колонку, и получить препарат с чистотой ~ 95%, сложно, о чем свидетельствует Рис. 6В в диссертации, где чистота препарата не превышает 80%.

Очень интересным мне показался фрагмент о сигнатурах HSP в биологических жидкостях онкологических пациентов, основанный на данных, находящихся в открытом доступе, анализ, позволивший с высокой вероятностью предсказывать наличие заболевания. Это очень важный результат, и, на мой взгляд, было бы правильно не оставлять эту линию исследований, и верифицировать биоинформатические данные на материале от пациентов с лимфомами.

Данные иммунологической части работы мне показались неоднозначными, и кроме того, что выборки были очень маленькими (2-4 пациента на точку, что связано с объективными причинами), были проблемы со статистической обработкой. Например, на рис. 12С для PD1 показана статистическая значимость $p < 0.01$, хотя «усы» стандартных ошибок пересекаются, а на Рис. 16D уровень IFN - γ под действием GA падает в 10-20 раз, как у здоровых доноров, так и у BCL пациентов, но разница признана статистически незначимой. Кроме того, в подписях к рисункам встречаются нелепости. Например, на Рис.9 ни на одном графике нет статистически значимых результатов, но в подписи к рис. указано, что * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

В главе «Обсуждение» автор дает лаконичный, но емкий сравнительный анализ совокупности данных, имеющих в мировой и отечественной литературе и результатов, полученных в ходе диссертационного исследования, что дает основание для полноценных выводов.

В целом работа Албаковой, в особенности части с великолепно проведенным биоинформатическим анализом, выглядит свежо и, как и каждое исследование в области иммунологических характеристик молекулярных шаперонов представляет материал для полемики, что и должно составлять отличие по-настоящему научного труда.

«Выводы» обоснованы полученными данными и соответствуют поставленным цели и задачам и полученным результатам.

Есть также мелкие замечания:

- (1) Во введении: Целью настоящей работы являлось изучение **молекулярных шаперонов семейства HSP** и ко-шаперонов в патогенезе и иммунотерапии лимфомы. Семейства HSP не существует. Есть семейство Hsp90 или HSPC, семейство Hsp70 или HSPA, Small HSP или HSPB и т.д.
- (2) В нескольких местах в диссертации встречается выражение «стресс-индуцированная изоформа Hsp70». Это неправильно. Hsp70, Hsc70 и GRP74 – не изоформы, а продукты разных генов.

И не могу не остановиться на Списке цитированной литературы. Он насчитывает 292 названия, и в ссылках нет упоминания ни одного российского автора, кроме Albakova Z.

Тем не менее, несмотря на мой критицизм, считаю, что диссертация Заремы Албаковой является законченным трудом в рамках поставленных задач. Материалы диссертации полностью отражены в автореферате и в достаточном количестве

опубликованных работ (8 статей в международных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России для размещения материалов кандидатских диссертаций, 5 из них - обзоры). Основные результаты работы были доложены на международной конференции 2nd International Conference on Immunology and Vaccines.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Диссертационная работа Албаковой Заремы, «Протективные и иммуномодулирующие эффекты белков теплового шока в лимфоме», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной задачи, направленной на роли белков теплового шока в патогенезе и иммунотерапии лимфом. Современный дизайн исследования, адекватные подходы и методы исполнения, достаточный объем полученных данных, их научная трактовка, а также актуальность исследования позволяют заключить, что диссертационная работа Заремы Албаковой полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 3.2.7 – «Аллергология и иммунология» (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена, согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Албакова Зарема заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7 – «Аллергология и иммунология».

Официальный оппонент:

доктор биологических наук,

Рук. отделом молекулярных

и клеточных взаимодействий

Института цитологии РАН,

Гужова Ирина Владимировна

_____/Гужова И.В./

« ____ » _____ 20 ____ года

Контактные данные: e-mail:

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:

1.5.22 Клеточная биология

Адрес места работы: Институт Цитологии Российской академии наук, 194064, г.Санкт-Петербург, Тихорецкий пр.4

Подпись доктора биологических наук Гужовой И.В. удостоверяю: