

ОТЗЫВ

**официального оппонента доктора медицинских наук, профессора
Затейщикова Дмитрия Александровича на диссертационную работу
Жетишевой Радимы Анатольевны на тему: «Протеомное исследование
изменений белкового состава аорты больных атеросклерозом: поиск и
идентификация белковых аутоантигенов» по специальностям**

14.01.05 – Кардиология и 03.01.04 – Биохимия

Актуальность темы исследования

Последние десятилетия ознаменовались приходом в медицинскую науку возможностей, условно объединяемых названием «омиксные технологии». В частности, развитие методики масс-спектрометрии и достижения биоинформатики сделали возможными использовать протеомные исследования для изучения механизмов развития заболеваний на абсолютно новом уровне. С этой точки зрения появилась возможность напрямую оценивать набор и структуру всего спектра белков, экспрессированных в данный момент в изучаемой ткани или находящихся в биологических жидкостях. Все эти слова относятся и к новым возможностям прямого исследования патогенетических механизмов развития атеросклероза. По современным представлениям, это процесс аккумуляции атерогенных фракций липидов крови в интима артерий с постепенным формированием атеросклеротической бляшки, которая, в некоторых случаях по не вполне понятным причинам активируется, что сопровождается ее изъязвлением или разрывом и последующим каскадом реакций, обозначаемых как атеротромбоз. Несмотря на длительную историю изучения этого заболевания, значительное число белков-участников до настоящего времени остается за пределами исследований. Новые технологии исследования позволяют вплотную подойти к изучению тонких различий

атероклеротических бляшек, находящихся на разных стадиях развития и, возможно, выявить молекулярные предикторы прогрессирования болезни или новые мишеней для разработки лекарственных препаратов.

С этой точки зрения диссертационная работа Жетишевой Радимы Анатольевны представляется весьма актуальной.

Научная новизна и практическое значение

В результате выполнения диссертационной работы Р.А. Жетишевой на основе протеомного анализа интактной ткани аорты человека, полученной при аутопсии, удалось существенно увеличить базу данных белков, определяемых в разных слоях аорты, выявить и идентифицировать атипичные фракции белков, характерные для атеросклеротического поражения, в том числе, аполипопротеина А1, β -фибриногена, γ -фибриногена, макрофаг-кэппирующего белка, катепсина D, легких и тяжелых цепей ферритина, гаптоглобина, супероксиддисмутазы, трансгелина. Выявлено, что накопление атипичных белков увеличивается в зоне липофиброзных бляшек. Показано, что в сыворотках крови больных с атеросклерозом при проведении двумерного иммуноблоттинга выявляются антитела к атипичным белковым фракциям. В качестве возможных аутоантигенов выявлены ламин А/С, проларгин, α -энолаза, лактадгерин, трансгелин, аполипопротеин А1, α -1 антитрипсин, r-ras онкоген, аннексин А4. Практическое значение этих находок заключается в том, что в последующем данные могут быть основой для поиска новых биомаркеров атеросклероза.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертационная работа Жетишевой Р.А. основана на достаточном для решения поставленных задач клиническом материале. Проанализировано

около 100 аутопсийных образцов из разных участков грудного отдела аорты с атеросклеротическим поражением и без него, полученных у 24 умерших. Во второй части работы для выявления наличия антител к атипичным белковым фракциям в сыворотках крови в работу были включены 69 пациентов. Достоверность полученных в исследовании результатов не вызывает сомнений, так как опирается на широкий спектр современных клинико-инструментальных и лабораторных методов исследования и подтверждается адекватной статистической обработкой материала.

Общая характеристика работы

Диссертация Жетишевой Р.А. выполнена в традиционном стиле, состоит из вступления, четырех глав, выводов, практических рекомендаций и списка цитированной литературы, включающего 20 публикаций отечественных и 142 - зарубежных авторов. Диссертация изложена на 142 страницах машинописного текста, иллюстрирована 25 таблицами и 37 рисунками.

Содержание и структура диссертации соответствуют общепринятым требованиям, предъявляемым к диссертационным работам.

Во введении автор излагает актуальность выбранной темы, формулирует цель и задачи, диссертационного исследования, которые соответствуют друг другу, описывает научную новизну, теоретическую и практическую значимость, а также положения, выносимые на защиту.

Первая глава представляет собой обзор литературы, в котором освещено современное состояние проблемы. Описана история изучения атеросклероза, представления о последовательности развития и прогрессирования атеросклеротической бляшки, описаны современные концепции патогенеза атеросклероза и возможности применения протеомных технологий в исследованиях в данной области.

В главе «Материалы и методы» автор описывает критерии отбора в исследование, приводит клиническую характеристику больных, применявшиеся клинико-лабораторные методы исследования, а также методы протеомного анализа и статистической обработки материала.

Результаты диссертационной работы описаны подробно. Приводятся данные протеомного исследования специфичности белкового состава интимы и медиального слоя грудного отдела аорты, выявление маркеров миграции гладкомышечных клеток в структуру интимы аорты. Проведен анализ белковых фракций в зависимости от стадии атеросклероза, идентификация атипичных белков в слоях аорты. Изучено семейство аполипептидов с точки зрения выявления их модификаций. А также последовательно – изменения в других белках.

Следующим этапом, описанным в главе, стало выявление аутоантигенов и анализу их взаимосвязи с основными факторами риска в разных группах больных.

В главе «Обсуждение» представлен обобщенный анализ полученных данных и сопоставление их с результатами имеющихся исследований.

Выводы и практические рекомендации вытекают из результатов проведенного исследования и соответствуют поставленным задачам.

Автореферат и представленные публикации полностью отражают основные положения диссертации.

По теме диссертации опубликовано 27 печатных работ: 8 статей в журналах, входящих в перечень Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования и науки Российской Федерации, 19 тезисов – 7 в отечественных и 12 в зарубежных сборниках трудов научных конференций.

Материалы работы представлены на российских и международных конференциях.

В работе имеется ряд стилистических неточностей (для обозначения белков, например, использованы сокращения, которыми обозначают соответствующие гены, фразы типа «протеомное исследование изменений белкового состава...», «ген APOA1 оказался при масс-спектрометрической идентификации аполипопротеидом A1» и т.д.). Все замечания, однако не носят принципиальный характер. Принципиальных замечаний по выполненной диссертации нет.

Вопросы:

1. Почему для протеомного анализа был выбран грудной отдел аорты?
2. Как характеризовалась группа больных, аутопсийный материал которых был использован, с точки зрения распространенности атеросклероза и основных факторов его риска?
3. Каков предполагаемый механизм участия аутоантигенов (таких как ламин A/C) в патогенезе атеросклероза?
4. Как, по мнению автора, формировались атипичные белковые структуры – как результат мутагенеза или в результате посттрансляционной модификации?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, диссертационная работа Жетишевой Радимы Анатольевны «Протеомное исследование изменений белкового состава аорты больных атеросклерозом: поиск и идентификация белковых аутоантигенов» под руководством д.м.н., профессора Наумова Владимира Геннадьевича и д.б.н. Ковалева Леонида Ивановича, представленная к защите по специальностям 14.01.05 – Кардиология и 03.01.04 – Биохимия, является

оригинальным, законченным, самостоятельным научно-исследовательским трудом. По научной новизне, теоретической и практической значимости полученных результатов диссертационная работа соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842 (с изменениями и дополнениями от 30 июля 2014 г. №723, от 21 апреля 2016г. №335, от 2 августа 2016 г. №748, от 29 мая 2017г. №650, от 28 августа 2017г. №1024, от 1 октября 2018 г.№1168), предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. Автор диссертации Жетишева Радима Анатольевна заслуживает присвоения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.05 – Кардиология и 03.01.04 – Биохимия.

Официальный оппонент

Заведующий первичным сосудистым отделением ГБУЗ «Городская клиническая больница №51 Департамента здравоохранения г. Москвы», доктор медицинских наук, профессор

«05» мая 2021 г.

Затейщиков Дмитрий Александрович

Подпись доктора медицинских наук, профессора Д.А. Затейщикова заверяю:

Начальник отдела кадров

«05» мая 2021 г.



Мартон Алла Евгеньевна

ГБУЗ «Городская клиническая больница №51 Департамента здравоохранения г. Москвы», 21 309, г. Москва, ул. Алябьева, д. 7/33.

Телефон, e-mail: gkb51@zdrav.mos.ru, тел: 8(499) 149-58-27