

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ
им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова
Российской академии наук

СТЕНОГРАММА

заседания диссертационного совета 24.1.037.01
7 июня 2023 года

Защита диссертации
на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Вавиловой Юлии Дмитриевны

По теме: «Изменение популяционного состава и характеристик системы шаперон-зависимого гомеостаза у циркулирующих клеток иммунной системы при развитии болезни Паркинсона»

Специальность – 1.5.3. Молекулярная биология

Москва – 2023

СТЕНОГРАММА

заседания Диссертационного совета 24.1.037.01, созданного на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, от 7 июня 2023 года.

Председатель
диссертационного совета д.х.н., академик РАН Мирошников Анатолий Иванович

Ученый секретарь
диссертационного совета д.ф.-м.н. Олейников Владимир Александрович

Из 30 членов совета присутствует 20 человек, из них докторов по профилю диссертации – 8.

- | | | |
|--------------------------|-----------------------------------|---------|
| 1. Академик РАН, д.х.н. | Мирошников Анатолий Иванович | (1.5.6) |
| 2. Д.физ.-мат.н. | Олейников Владимир Александрович | (1.5.6) |
| 3. Д.б.н. | Ажикина Татьяна Леодоровна | (1.5.3) |
| 4. Д.х.н. | Безуглов Владимир Виленович | (1.4.9) |
| 5. Д.х.н. | Белогуров Алексей Анатольевич | (1.5.3) |
| 6. Д.х.н. | Бовин Николай Владимирович | (1.5.6) |
| 7. Академик РАН, д.х.н. | Габибов Александр Габибович | (1.5.6) |
| 8. Д.х.н. | Генералова Алла Николаевна | (1.5.6) |
| 9. Академик РАН, д.б.н. | Деев Сергей Михайлович | (1.5.3) |
| 10. Д.б.н. | Долгих Дмитрий Александрович | (1.5.3) |
| 11. Академик РАН, д.х.н. | Донцова Ольга Анатольевна | (1.5.3) |
| 12. Д.б.н. | Зарайский Андрей Георгиевич | (1.5.3) |
| 13. Д.х.н. | Зубов Виталий Павлович | (1.5.6) |
| 14. Академик РАН, д.б.н. | Лукьянов Сергей Анатольевич | (1.5.3) |
| 15. Д.х.н. | Мирошников Константин Анатольевич | (1.5.6) |
| 16. Д.х.н. | Овчинникова Татьяна Владимировна | (1.4.9) |
| 17. Д.б.н. | Сапожников Александр Михайлович | (1.5.3) |
| 18. Д.х.н. | Смирнов Иван Витальевич | (1.4.9) |
| 19. Д.х.н. | Шахпаронов Михаил Иванович | (1.4.9) |
| 20. Д.х.н. | Ямпольский Илья Викторович | (1.4.9) |

Мирошников А.И., председатель: Коллеги, ну, пожалуй, мы начнем заседание ученого совета. У нас сегодня две защиты. Вавилова Юлия Дмитриевна и Гавриков Алексей Семенович. Пожалуйста, Владимир Александрович, вам слово.

Олейников В.А., ученый секретарь: *(зачитывает информацию о соискателе и документах, содержащихся в личном деле соискателя)* Юлия Дмитриевна Вавилова, окончила Российский Национальный Исследовательский медицинский университет имени Пирогова в восемнадцатом году. Далее, далее, с девятнадцатого года по настоящее время младший научный сотрудник нашего института. С восемнадцатого по двадцать второй аспирантка нашего института. Кандидатский экзамен по специальности молекулярная биология сдан с оценкой отлично. Работа выполнена в нашем институте. Научный руководитель Сапожников Александр Михайлович. Ну и, соответственно, по теме диссертации опубликовано четыре работы в рецензируемых научных изданиях. Объявления о защите, автореферат диссертации размещены на сайте ВАК вовремя, а именно, пятого апреля настоящего года, двадцать третьего и все необходимые документы в деле есть.

Мирошников А.И., председатель: Вопросы? Вопросов нет. Пожалуйста, Юлия Дмитриевна, вам 20 минут.

Вавилова Ю.Д., соискатель: *(Излагает основные положения диссертационной работы).*

Мирошников А.И., председатель: Коллеги, вопросы? Николай Владимирович, пожалуйста.

Бовин Н. В.: Может быть у меня немножко кривое впечатление получилось. Но вот какое оно: когда вы зачитали выводы? у меня впечатление, что каждый из них самостоятельный, относительно самостоятельный. То есть какие-то определенные аспекты всей этой проблемы вы затронули, а хотелось бы чтобы вы сделали общий вывод, один общий вывод из того пласта, который вы подняли. Вот что вы считаете сделали самое главное, самое мощное, самое перспективное для дальнейшего?

Вавилова Ю.Д., соискатель: Спасибо. Наверное самое, ну как сказать, я считаю что всё было важным. Но, наверное, выявление таких показателей как экспрессия мрнк HSPA6 и внутриклеточные содержание белка р62 вместе может использоваться как в дальнейшем потенциальный биомаркер. Это важно, и это, я считаю, что нужно в дальнейшем изучать на более расширенных выборках конечно же. И что профиль, иммунный профиль пациентов с

болезнью Паркинсона явно отличается от нормального. И это тоже стоит в дальнейшем изучать, тоже интересный такой перспективный момент.

Бовин Н. В.: Есть шанс лечить?

Вавилова Ю.Д., соискатель: Ну конечно есть.

Бовин Н. В.: Спасибо!

Мирошников А.И., председатель: Спасибо. Еще вопросы? Да, пожалуйста, Татьяна Владимировна.

Овчинникова Т.В.: У меня впечатления от работы очень хорошие, она как пазл из разных аспектов складывается и в общем объём работы очень большой. А вопросы следующие, сначала общее, если позволите. Вот известно, что болезнь Паркинсона, она, триггерами её частенько являются различные вирусные инфекции. Вот вы каким-то образом анализировали что в анамнезе было тех пациентов, которых вы анализировали вот те или иные показатели? Что послужило причиной, были ли у вас данные о том, что предшествовало развитию этого заболевания?

Вавилова Ю.Д., соискатель: Спасибо за похвалу моей работы и за вопрос. Да, действительно интересный вопрос, и действительно хроническое воспаление может... тут на самом деле неизвестно что является первоначальным, нейровоспаление в головном мозге, повреждение нейронов, либо что-то происходит на периферии, какое-то воспаление, дальше это мозг. И случаи пациентов с болезнью Паркинсона в нашей выборке были спорадическими, идиопатическими. Что это значит, они совершенно случайные, без анамнеза в семье, то есть это не генетические, не генетически опосредованные. И идиопатические, то есть неизвестные. Этиология болезни Паркинсона в нашей выборке была неизвестна.

Овчинникова Т.В.: Спасибо. И второй вопрос. Поскольку одна из целей - поиск биомаркеров для ранней диагностики, а ну ведь пациент обратится тогда, когда у него появится симптоматика, то есть гипокинезия, тремор, так далее, до этого он не придет анализировать, есть ли у него биомаркеры. Может и придет, но не только на болезнь Паркинсона, если есть такая озабоченность. Но, в целом, конечно нет. Какова практическая значимость поисков этих биомаркеров для ранней дифференциальной диагностики, как вам кажется?

Вавилова Ю.Д., соискатель: Это действительно очень актуальный вопрос, потому что диагноз ставится на основании, действительно, клинических симптомов и это, как правило, до 80% нейронов уже может погибнуть к этому времени. В настоящее время в литературе ведется огромный поиск биомаркеров - это и альфа-синуклеин в плазме, это различные

биохимические маркеры. Я считаю, что нужно найти и верифицировать на огромной выборке пациентов сначала, конечно же, у которых был Поставлен диагноз болезнь Паркинсона и, в дальнейшем, использовать как скрининг, скрининг здорового населения.

Овчинникова Т.В.: Спасибо. Ну и последний вопрос совершенно конкретный. Можно выводы еще раз показать?

Вавилова Ю.Д., соискатель: Да, пожалуйста.

Овчинникова Т.В.: Вот первый пункт, мРНК, транскрипционная активность возрастает, а изменение внутриклеточного содержания белков остается на прежнем уровне. Вот как вы можете это объяснить?

Вавилова Ю.Д., соискатель: Позвольте я переключу слайд. Дело в том, что при измерении внутриклеточного уровня белков HSP70 были использованы клон антител коммерческих BRM-22, который распознает весь пул белков теплового шока, то есть это как конститутивные, так и стресс-индуцируемые. А на уровне мРНК, мы за детектировали только повышение мРНК стресс индуцируемых генов. Так как конститутивный белок теплового шока в клетке превалирует, то за счет антител BRM-22 мы обнаружили в основном, конечно же, этот белок потому что стресс-индуцируемый находится следовых количествах. Его детектировать сложно методом проточной цитометрии. А измерение транскрипционные активности является более чувствительным методом, поэтому здесь мы, да, удалось за детектировать

Овчинникова Т.В.: Спасибо. Я удовлетворена ответом.

Мирошников А. И., председатель: Спасибо. Еще вопросы? Юлия Дмитриевна, а структура р62 известна, белка?

Вавилова Ю.Д., соискатель: Да, известна. Но, подробно, я, к сожалению, не смогу ответить.

Мирошников А. И., председатель: Но известна?

Вавилова Ю.Д., соискатель: Известна, да.

Мирошников А. И., председатель: Скажите пожалуйста, а с кем вы работали? С какой больницей? Где вы брали материал?

Вавилова Ю.Д., соискатель: Это в благодарностях будет присутствовать, но хорошо. Это научный центр неврологии и центр Бурназяна.

Мирошников А. И., председатель: спасибо. Так, коллеги, есть еще вопросы? Спасибо, присядьте. Александр Михайлович, пожалуйста, охарактеризуйте.

Сапожников А.М., научный руководитель: Уважаемые коллеги, как поведал уже Владимир Александрович, Юля, тогда ещё Тетерина, не Вавилова, пришла к нам в

лабораторию для выполнения дипломной работы будучи студенткой кафедры биохимии МБФ-а, РНИМУ медико-биологического факультета. На самом деле очень хорошая база и у нас много сотрудников с этой базы в лаборатории. И практиковались, и писали работы и вот остались сотрудниками. Юля защитила 2018 году свою дипломную работу на “отлично” и в этом же году поступила в аспирантуру к нам в ИБХ. И, собственно, как раз, когда она стала уже аспиранткой первого года, 2 года проведя в составе лаборатории, мы все поняли и, я прежде всего, что нашей лаборатории, нашему коллективу очень повезло с приобретением такого молодого сотрудника, прекрасного во всех отношениях. Это действительно уникальная личность потому что в ней сочетаются и человеческие качества, и работоспособность, и инициатива, и взаимопомощь, взаимовыручка, что, собственно, характерно для нашей лаборатории было всегда. Мы очень рады что, Юля влилась в наш коллектив. Работая и над дипломной работой, и в аспирантуре, она, безусловно, осваивала новые методики, всё схватывало и благодаря своим коммуникабельным, прекрасным свойствам она обучалась у сотрудников нашей же лаборатории, коллаборировала и с другими лабораториями для освоения методов молекулярной биологии. Всё успешно осваивала и применяла в дело. Безусловно, уровень образования отличный, прекрасно с литературой общается, и вот она, работая над своей диссертационной работой ещё проявила свою способность коммуницировать и удачно общаться с клиницистами. Были две базы, вот как Татьяна Владимировна спросил, вернее Анатолий Иванович, с которыми она коллаборировала, и прекрасные были отношения что не всегда получается при коллаборации с клиницистами. То есть, Юля, со всех сторон прекрасный научный сотрудник. Я верю что, Юля еще долго будет работать в нашем коллективе, очень рад этому обстоятельству. Я оцениваю её диссертационную работу как вполне достойную для утверждения.

Мирошников А. И., председатель: спасибо.

Сапожников А.М., научный руководитель: Спасибо.

Мирошников А. И., председатель: Спасибо. Владимир Александрович.

Олейников В.А., ученый секретарь: *(зачитывает положительное заключение)*. Так, ну традиционно начинаем с заключения организации где выполнена работа. Это наш институт, институт биоорганической химии. Название уже прозвучало и, далее, в заключении, во-первых, анкетные данные об окончании, соответственно, об ее образовании, тоже прозвучало. Тема утверждена у нас в ИБХ 19 декабря восемнадцатого года и сама работа на открытом межлабораторным семинаре обсуждалась отдела иммунологии и по итогам обсуждения следующее заключение: ну, во-первых, актуальность, но в принципе это

определяется тем что, очень актуальная тема болезнь Паркинсона с которой, так сказать, трудно бороться. Ну вот такие шаги делаются. Личное участие: исследования по теме диссертации проведены с восемнадцатого по двадцать второй годы, то есть 4 года и, соответственно, все экспериментальные, теоретические исследования по теме диссертации проведены лично соискателем или при его непосредственном участии. Степень достоверности сомнения не вызывает, это отмечается. Новизна и практическая ценность: ну здесь, соответственно, перечислено что было обнаружено, что было получено, то что мы с вами слышали только что. Ну и наконец публикации, тут отмечается что с 20 по 22 год работа была поддержана грантом на лучшие проекты РФФИ, это аспиранты раздела аспиранты. Результаты опубликованы в четырех серьезных журналах, прошла проверку на оригинальность, соответственно, работа. Ну и сам семинар, он рекомендует эту работу к защите. Подписано председателем семинара Сергеем Михайловичем Деевым, ну и, соответственно, утверждено заключение директором нашего института Александром Габировичем Габировым.

(Далее зачитывает отзыв ведущей организации, отзыв положительный). Теперь отзыв ведущей организации. Ведущей организацией является ГНЦ Институт Иммунологии ФМБА России и, соответственно, отзыв полностью положительный, опять же актуальность подчеркивается тематикой работы, борьба с болезнью Паркинсона. И, соответственно, поиск маркеров, что актуально. Далее, основные результаты диссертационной работы и ее достоверность. Основные результаты представлены двумя направлениями: первое заключается в анализе изменения работы системы молекулярных шаперонов в мононуклеарах и нейтрофилах периферической крови при болезни Паркинсона, второе - это направление по определению фенотипических и функциональных особенностей Т-лимфоцитов в НК-клеток у пациентов с болезнью Паркинсона. Ну и дальше, в рамках каждого из направлений здесь подробно анализируется и подробно описывается достаточно те достижения и те находки, которые были сделаны диссертантом. И в заключение пишется, что в целом результаты описаны кратко, но с достаточно детальными подробностями и проиллюстрированы соответствующими рисунками. Полученные данные полностью представлена на графиках и таблицах. Научная новизна, но тут встречаются слова впервые было обнаружено увеличение содержания основного белка аутофагии р62 периферических мононуклеарах и выявлена положительная взаимосвязь между содержанием р62 в этих клетках и уровня их спонтанного апоптоза. Установлено, что при болезни Паркинсона снижается процентное содержание Т-клеток с признаками иммуностарения. Значимость результатов, научно-практическая значимость работы заключается в обнаружении

потенциально-перспективных периферических биомаркеров болезни Паркинсона. Общая характеристика диссертационной работы: соответственно по классическому стилю, двести девять ссылок, сто страниц текста, обзор литературы написано в хорошем стиле, материалы и методы достаточно подробно дают представление о том, как это делалось и какими методами. Представлены на четыре международных, четыре российских и представлено в четырех печатных работах, ну и, принципиальных замечаний по диссертации нет. Можно отметить, некоторые технические недочеты, в частности, отсутствует единое обозначение цитомегаловируса (CMV) в тексте и на рисунке пятнадцать, в некоторых местах обозначения субпопуляций Т-лимфоцитов, Tcm, Tem, Temra встречаются без учета регистра. Отмеченные стилистические неточности не умаляют ценности диссертационной работы. В заключение здесь говорится, что это работа представляет собой законченную научно-исследовательскую работу высокого уровня. Диссертационная работа соответствует критериям ВАКа, ну и, соответственно, она соответствует степени присвоения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. - молекулярная биология. Ну а сам диссертант достоин присуждения этой степени. Отзыв обсужден на межлабораторном семинаре. Отзыв составил доктор биологических наук, профессор, Филатов Александр Васильевич и этот отзыв, соответственно, утвержден директором ФГБУ ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России, Хаитов подписал.

Мирошников А. И., председатель: Владимир Александрович, первого оппонента нет. Пожалуйста, тогда, отзыв.

Олейников В.А., ученый секретарь: Давайте второй выступит?

Мирошников А.И., председатель: Нет, сначала нужно ответить ей на вопросы, на замечания.

Олейников В.А., ученый секретарь: Ну, замечаний практически нет.

Мирошников А. И., председатель: Юлия Дмитриевна, будете отвечать? Ведущей организации.

Олейников В.А., ученый секретарь: Там практически не было замечаний. Я просто говорю, что там фактически только стилистические вещи, где-то в каком-то рисунке присутствуют какие-то неточности, ну и, соответственно, без учета регистра там какие-то были обозначения.

Мирошников А. И., председатель: Ну хорошо. Ольга Сергеевна, вам слово.

Лебедева О.С, оппонент: *(излагает отзыв, отзыв положительный)*. Здравствуйте, уважаемые коллеги. Я с большим удовольствием ознакомилась с работой Юлии Дмитриевны. Актуальность работы сомнений не вызывает, как уже было отмечено и в

отзыве ведущей организацией. В последнее время иммунная тема начинает рассматриваться не только как возможный источник материала для диагностики болезни Паркинсона, но и как актор этого процесса. И вот такой переход в изучении иммунной системы и отражен, в том числе в работе Юлии Дмитриевны. Научная новизна и практическая ценность также сомнений не вызывают. Диссертационная работа изложена на ста страницах, богато иллюстрирована двадцатью двадцати двумя рисунками и шестью таблицами, список литературы включает двести девять источников, работа по стандартной схеме. Все разделы написаны достаточно подробно, обзор литературы позволяет погрузиться в тему исследования, материалы и методы также описано с достаточными подробностями. Методы, использованные в работе, адекватны поставленным задачам и современны. Результаты написаны достаточно тоже подробно, результатов очень много, восемь разделов в этой главе диссертации. В обсуждении результатов автор указывает на важность поддержания протеостаза в работе головного мозга и в принципе при болезни Паркинсона, резюмирует полученные результаты и интерпретирует их через призму известных данных литературы. В заключение изложены полученные автором результаты и подчеркнута их значимость в контексте современного состояния проблемы. Выводы, сделанные автором соответствуют поставленным задачам, однако мне удалось найти в диссертации некоторые погрешности и также возник ряд вопросов, интересующих меня как исследователя болезни Паркинсона.

Из замечаний, в тексте присутствует опечатки, пунктуационные, стилистические ошибки. Но ошибок совсем немного, и они не мешают восприятию текста. Отсутствует ссылка на рисунок три, сбита нумерация в разделе материалы и методы, на некоторых рисунках присутствуют подписи на английском языке, которые иногда не расшифрованы. На рисунке девять есть расшифровка обозначения “ns”, но на рисунке такого обозначения нет. Ошибочно на странице сорок девять, ошибочно приведена ссылка на рисунок шесть, хотя по тексту имелся ввиду другой рисунок, судя по всему.

Так, и что касается вопросов, первый вопрос несколько повторяют уже заданный из аудитории: проверяли ли пациентов из исследуемой выборки на распространенные инфекционные заболевания, такие как вирус простого герпеса, хламидии, боррелии, хеликобактер, поскольку они также влияют на состояние иммунной системы и могут, в том числе, влиять и на развитие болезни Паркинсона. На рисунке десять приведены интересные данные по сравнению базальной экспрессии стресс-индуцированных генов в РВМС и в гранулоцитах, но этот результат, на мой взгляд, недостаточно подробно обсужден в работе, и, возможно, его стоит более подробно раскрыть. И последний вопрос, известны ли

статистические данные по заражению ЦМВ среди пациентов с болезнью Паркинсона в Российской популяции. Естественно, тяжело набрать достаточно выборку, всегда ученые сталкиваются с этой проблемой. Но диссертанту удалось это сделать, вот, и, конечно, хорошо было бы иметь в работе в группу пациентов с болезнью Паркинсона не страдающих, не зараженных цитомегаловирусом. Вот потому я и спрашиваю просто статистику этого заболевания в российской популяции.

И, в заключении, хочу отметить, что достоверность полученных автором результатов и сделанных на их основе выводов не оставляет сомнений, положение автора в составе авторского коллектива в опубликованных работах свидетельствует о личном вкладе диссертанта. Выполненное исследование, автореферат диссертации полностью отражает основное содержание диссертации, таким образом диссертация Вавиловой Юлии Дмитриевны, изменения популяционного состава и характеристик системы шаперон-зависимого гомеостаза у циркулирующих клеток иммунной системы в развитии болезни Паркинсона является законченной оригинальной работой, научное и практическое значение, которой в области молекулярной биологии не вызывает сомнений. По своему содержанию, уровню выполнения научных исследований, научной новизне и практической значимости полученных результатов, диссертация полностью отвечает критериям, в том числе и пункту 9, установленном положении о присуждении ученых степеней, а ее автор, Юлия Дмитриевна, заслуживает присуждение ученой степени кандидата биологических наук.

Мирошников А. И., председатель: Спасибо, Ольга Сергеевна.

Лебедева О.С, оппонент: Спасибо вам.

Мирошников А. И., председатель: Так, ну давайте, Юлия, отвечайте.

Вавилова Ю.Д., соискатель: В первую очередь хочу поблагодарить Ольгу Сергеевну за такое детальное прочтение моей работы. Я действительно согласна с замечаниями, что имеются стилистические ошибки, что нет ссылки на рисунок. Да, это действительно все присутствует, согласна с замечаниями. Что касается ответов на вопросы, проверяли ли на другие распространенные инфекции. На другие инфекции, такие как хеликобактер, хламидия, боррелия, вирус простого герпеса, мы не проверяли. Однако, изначально, стояла немного другая задача, посмотреть общий репертуар, Т- и НК-клеток на фоне цитомегаловирусной инфекции. Поэтому мы сосредоточились именно на цитомегаловирусной инфекции, проверяли только на нее. А что касается рисунка десять, позвольте я его покажу. На рисунке, на этом рисунке показана разница в экспрессии стресс-индуцированных генов между такими популяциями как монокулярные клетки периферической крови, так и гранулоциты. Ольга Сергеевна предлагает более подробно

обсудить этот результат. Но такие, такой результат был показан ранее моими коллегами в нашей лаборатории, были опубликованы данные, что действительно, гранулоциты имеют более высокую базальную экспрессию стресс-индуцированных генов, кодирующих белки HSP70. Так как у нас это было продемонстрировано тоже, как и пациентов, так и здоровых доноров. Отличий между группами мы не обнаружили, поэтому в данной работе не стали углубляться в изучение других систем в гранулоцитах, так как отсутствовали различия между группами. И, последний вопрос про статистические данные. Статистические данные по заражению CMV пациентов с болезнью Паркинсона Российской популяции неизвестны. И, действительно, я согласна, что набрать выборку CMV-негативных пациентов с болезнью Паркинсона, и вообще в принципе CMV-негативных пациентов и здоровых доноров довольно сложно. Потому что к пожилому возрасту инфицированность CMV-инфекцией в российской популяции достигает девяносто процентов. В нашем следовании, да, все пациенты были CMV-серопозитивны. И я, конечно же, согласна, что наличие такой группы CMV-негативной, да, действительно, украсило бы это следование. Спасибо.

Мирошников А. И., председатель: Ольга Сергеевна, вы удовлетворены?

Лебедева О.С, оппонент: Юлия Дмитриевна, спасибо за ответы. Я полностью удовлетворена.

Вавилова Ю.Д., соискатель: Спасибо.

Мирошников А. И., председатель: Спасибо. Значит, Владимир Александрович.

Олейников В.А., ученый секретарь: *(зачитывает отзыв оппонента, отзыв положительный)* Ну и второй оппонент. Это Гужова Ирина Владимировна, по объективным причинам она не может присутствовать. Ну вот у меня в руках отзыв на диссертацию, отзыв оппонента официального. Отзыв полностью положительный. Но, я опять же, не буду говорить, уже зачитывать об актуальности работы, новизне, поскольку мы уже слышали. Вот я хочу зачитать, в целом поставленные диссертантом, цель и задачи исследования соответствует названию работы и ее содержанию. Выносимые на защиту положения аргументированы и логично вытекают из материала диссертации. Выводы диссертационной работы логично обоснованы, полностью соответствуют поставленным задачам и полученным результатам. Исследование выполнено с соблюдением этических норм научных исследований. Значит, отзыв полностью положительный, как я сказал. Как бы, замечание, выделенных явно нет, но вот при обсуждении результатов пишется следующее: в главе результаты описание начинается с выбора антител. Юля Дмитриевна использует два

коммерческих доступных антитела, узнающих и Hsp70 и Hsc70, и второе антитело C92F3A-5, способное узнавать только индуцибельный Hsp70. Применение антител BRM-22 показало сдвиг флуоресценции клеток РВМС в нормальных условиях, и еще больший сдвиг при использовании мягкого теплового шока, в то время как окраска клеток антителами C92F3A-5 не привела к сдвигу флуоресценции. Эти данные вызывают недоумение. Экспрессия Hsp70 при тепловом шоке и других стрессах регулируется транскрипционным фактором HSF1, а экспрессия Hsc70 имеет другой тип регуляции, не зависящий от стресса. Т.е. сдвиг флуоресценции в верхней панели мы можем объяснить повышением содержания Hsp70 в клетках РВМС, но это противоречит данным, представленным в нижней панели. Проверили ли работоспособность антитела C92F3A-5, у примеру с помощью вестерн-блоттинга? В коллективе, где работает Юлия Дмитриевна, есть панель моноклональных антител, узнающих как Hsp70, так и оба шаперона. Эти антитела довольно хорошо охарактеризованы, и использованы в публикациях в приличных журналах. Почему противоречивый результат, представленный на рис.5 не был перепроверен с помощью собственных антител? Второе, далее, с помощью антител BRM-22, автор показывает, что как базальный уровень Hsp70, так и их уровень после мягкого теплового шока выше в РВМС здоровых доноров, в то время как оценка мРНК показала, что синтез этих белков у здоровых доноров ниже, чем у пациентов с болезнью. Этому должна быть причина. На рис. 7 уровень изменения Hsp70 в PMN у пациентов с болезнью Паркинсона по сравнению со здоровыми донорами нет разницы в экспрессии между пациентами с БП и здоровыми донорами, а в клетках РВМС эта разница была. Какая конкретно, по мнению автора популяция клеток РВМС может вносить вклад в разницу в экспрессии белков HSP70?

Ну и далее, значит, уже позитивная часть, интересная часть диссертации, подробные исследования. И в главе обсуждения автор дает емкий сравнительные анализы совокупности данных, имеющихся в мировой и отечественной литературе. Характеризуя работу Вавиловой, в целом, хочу отметить, что ее выводы логически следуют из полученных данных, полностью соответствуют поставленным задачам, ну и так далее. Автореферат полностью соответствует. Ну и в заключение, исходя из актуальности научной новизны, практической ценности присущей данной работе можно заключить, диссертационная работа Вавилова Юлии Дмитриевны соответствует критериям, соответственно, ВАКа, а сама диссертант, несомненно, заслуживает присуждение искомой степени. Официальный оппонент, доктор биологических наук, руководитель отдела

молекулярных и клеточных взаимодействия института цитологии, российской академии наук, Гужова Ирина Владимировна.

Мирошников А. И., председатель: Спасибо, Юля. Ну, развейте недоумение оппонента.

Вавилова Ю.Д., соискатель: Позвольте открыть слайд. Что, что касается антител BRM-22, еще раз повторюсь, что эти антитела узнают весь пул белков теплового шока, как стресс-индуцируемых, так и конститутивных. И, ранее, коллегами в моей лаборатории была продемонстрирована модель изменения уровня HSP70 сразу после кратковременной гипертермии клеток, без периода восстановления. Это тепловой шок, десятиминутный, сорок три градуса. Как раз период восстановления нужен для активации “хит шок фактора” и синтеза стресс-индуцируемого белка *de novo*. В нашей работе использовалась модель без накопления этого белка *de novo*, потому что такой тепловой шок не вызывает синтеза стресс-индуцированных белков *de novo*. Поэтому, действительно, в работе применялись антитела, которые распознают стресс-индуцируемые внутриклеточные белки теплового шока HSP70, но не показали сдвига флуоресценции после мягкого нагревания, что соответствует тем, что сказала ранее без синтеза этого белка *de novo*. И, конечно же, эти антитела проверялись моими коллегами ранее с помощью вестерн-блоттинга. Здесь можно увидеть работу, в которой сравнивались гранулоциты и мононуклеарные клетки. Действительно мы видим, что антитела работают, а вестерн блот это подтверждает. Почему все-таки сдвиг флуоресценции присутствует в использование коммерческих BRM-22. Я уже отвечал на этот вопрос, но еще раз повторюсь. Хочу сказать, что внутриклеточно превалирует конститутивный белок теплового шока и такое мягкое нагревание, такая модель теплового шока демонстрирует доступность эпитопов белков теплового шока к моноклональным антителам, а так как конститутивный белок превалирует в клетке, то мы видим сдвиг флуоресценции. Что касается панелей, перечисленных Ириной Владимировной в отзыве, почему не проверялись? Хочу отметить, что эти антитела распознают также как конститутивные белки теплового шока, так и стресс-индуцируемые, то есть эта панель антител работает как коммерческое антитело BRM-22, мы не обнаружили различий между группами сравнения, поэтому перепроверять, считаю, что было нецелесообразно. Однако, да действительно, эти антитела запатентованы и широко используются нашей лабораторией. Также я хочу отметить, что отличий между группами, между группой пациентов с болезнью Паркинсона и здоровых доноров по внутриклеточному содержанию белков HSP70 не было, тогда как стресс-индуцируемые гены были увеличены у пациентов с болезнью Паркинсона. И, конечно же, в заключении

хочу поблагодарить Ирину Владимировну. Действительно очень интересные вопросы по работе антител. Спасибо, на этом все.

Мирошников А. И., председатель: Спасибо. Присядьте. Коллеги, открываем дискуссию, кто хотел бы что-то сказать по поводу диссертации. Не вижу желающих. Тогда Юлия, вам заключительное слово.

Вавилова Ю.Д., соискатель: Хочу поблагодарить, выразить искреннюю благодарность коллективу лаборатории клеточных взаимодействий за предоставленную возможность на базе лаборатории осуществить данную работу, своему научному руководителю проф., д.б.н А.М. Сапожникова за ценные методические и научные указания. Также хочу поблагодарить научного сотрудника лаборатории клеточных взаимодействий Бойко Анну Александровну за всестороннюю поддержку, за помощь в организации исследования, обсуждение результатов и написание статей. Хочу поблагодарить ведущего научного сотрудника, Ажикину Татьяну Леодоровну за предоставление возможности выполнения части экспериментальной работы в лаборатории структуры и функций генов человека, за ценные методические рекомендации. Отдельная благодарность хочу выразить старшему научному сотруднику, Коваленко Елене Ивановне за грамотную, планомерную, аргументированную методическую помощь, наставничество на всех этапах выполнения данной работы, за обучение искусству письма и грамотного изложения материала. Также хочу поблагодарить научный центр неврологии, Пономареву Н.В., Фокина В.Ф и центр Бурназяна, Бриль Е.В. и Зимнякову О.С за помощь в подборе добровольцев для исследуемых групп. Также хочу поблагодарить своих оппонентов Гужову Ирину Владимировну и Лебедеву Ольгу Сергеевну за то, что очень внимательно прочитали мою диссертацию и отнеслись с большой ответственностью к написанию отзывов и замечаний. Также хочу поблагодарить всех кто пришел меня поддержать, для меня это очень важно, спасибо вам большое. И работа была выполнена при поддержке гранта РНФ и РФФИ. Спасибо.

Мирошников А. И., председатель: И пациентов которые отдали свою кровь.

Вавилова Ю.Д., соискатель: да, их тоже.

Мирошников А. И., председатель: Спасибо. Коллеги, значит, предлагается счетная комиссия в составе: Овчинниковой Т.В., Мирошникова Константина и Владимира Александровича. Возражений нет у совета? Спасибо.

(Объявляется перерыв на тайное голосование)

