

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук, профессора РАН, заведующего лабораторией физиологии мышечной деятельности Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного научного центра Российской Федерации Института медико-биологических проблем Российской академии наук Попова Даниила Викторовича на диссертационную работу Соловьевой Натальи Александровны на тему: «Протеомные сигнатуры внеклеточных везикул аденокарциномы легкого и колоректального рака», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. – «Биохимия»

Актуальность темы исследования

Рак легких и колоректальный рак занимают ведущие позиции по смертности среди онкологических заболеваний. Определение стратегии лечения этих заболеваний и успешность их терапии сильно зависят от своевременной диагностики и определения типа опухолей. Диссертационная работа Н.А. Соловьевой «Протеомные сигнатуры внеклеточных везикул аденокарциномы легкого и колоректального рака» посвящена решению этой важной проблемы, а именно направлена на поиск специфичных для внеклеточных везикул белков, ассоциированных с раком легких и колоректальным раком. Тема диссертационной работы, безусловно, является актуальной, а само исследование направлено на решение социально значимой проблемы.

Научная новизна результатов исследования

Для изучения белков внеклеточных везикул, ассоциированных с колоректальным раком и раком легких, в исследовании был использован двухэтапный подход. На первом этапе, с помощью панорамного масс-спектрометрического анализа был проведен поиск потенциальных ткане- и линиеспецифичные белков-маркеров (протеомных сигнатур), ассоциированных с внеклеточными везикулами при раке легких и колоректальном раке, на клеточных моделях колоректального рака и рака

легких. На втором этапе, на клиническом материале (внеклеточные везикулы, выделенные из крови пациентов) была проведена верификация выбранных маркеров методом направленной масс-спектрометрии (SRM/SIS) – который является «золотым» стандартом для высокоспецифичной количественной детекции белков. Такой подход позволил идентифицировать семь белков (FN1, TLN1, TUBA4A, HSPA8, ITGB3, TSG101 и PACSIN2), являющихся информативными маркерами рака легких, а также ряд белков, являющихся перспективными кандидатами для диагностики колоректального рака (FN1, TLN1, ITGB3, HSPA8, TUBA4A, CD9, CD63, HSPG2, ITGB1 и GNAI2). Результаты, полученные в работе открывают перспективы для разработки новых малоинвазивных подходов для диагностики в клинической онкологии.

Достоверность научных результатов, степень обоснованности выводов и результатов

Исследование выполнено на высоком методическом уровне. Представленные результаты получены с применением современных методов и оборудования. Корректное выделение везикул было подтверждено прямым методом – криоэлектронная микроскопия, а также с помощью масс-спектрометрического анализа (метод SRM/SIS), подтвердившего высокое содержание в пробах белков-маркеров внеклеточных везикул. Основная часть исследований на клиническом материале (количественная оценка содержания везикулярных белков) была выполнена с помощью метода SRM/SIS. Обработка и интерпретация данных были проведены с использованием общепринятых статистических и биоинформатических подходов. Достоверность научных выводов и положений, сформулированных в диссертации, подтверждается их согласованностью с данными предыдущих исследований.

Публикации и апробация основных результатов работы

Основные результаты диссертационного исследования опубликованы в семи статьях, три из которых в журналах, входящих в первый квартиль; в

четырёх статьях Н.А. Соловьевой является первым автором, что указывает на то, что диссертант внес ключевой вклад в исследование.

Оценка содержания диссертации

Диссертация подготовлена по классической схеме и включает основные разделы: Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты, Обсуждение результатов, Заключение, Выводы, Список используемой литературы и Приложения, изложена на 170 страницах и сопровождается 38 рисунками и 8 таблицами. Текст диссертации написан ясно, хорошим литературным языком.

В разделе «Введение» автор раскрывает актуальность исследуемой темы, подчеркивая важность изучения внеклеточных везикул в контексте рака легких и колоректального рака и акцентирует внимание на необходимости создания малоинвазивных методов диагностики, таких как «жидкостная биопсия». В разделе корректно сформулированы цель и задачи исследования, отражающие научную новизну работы, и выделены основные положения, выносимые на защиту.

Раздел «Обзор литературы» приведены данные о истории открытия внеклеточных везикул, их биогенезе и белковом составе, способах их выделения и анализа, а также о изученности проблемы использования внеклеточных везикул в качестве маркеров различных онкологических заболеваний. Раздел хорошо структурирован и логично подводит читателя к задачам, решаемым в работе.

В разделе «Материалы и методы» подробно описаны методы выделения внеклеточных везикул из среды культивирования модельных клеточных линий и плазмы крови человека. Приведены протоколы пробоподготовки к масс-спектрометрическому анализу. Подробно описаны методы панорамной и направленной хромато-масс-спектрометрии и подходы к обработке полученных МС-данных.

Разделе «Результаты» последовательно и подробно представлены данные, полученные автором. Форма представления дает возможность понять и интерпретировать все полученные результаты.

В разделе «Обсуждение результатов» автор сравнивает полученные данные с результатами других исследователей и интерпретирует изменения выявленных белков-маркеров. Автор провел критический анализ выявленных биомаркеров внеклеточных везикул и их роли в прогрессии и метастазировании рака. Обсуждена возможность применения этих биомаркеров в клинической практике. Кроме того, значительное внимание уделено обсуждению специфичности и чувствительности предложенных биомаркеров в сравнении с существующими методами диагностики, что отражает практическую ценность исследования.

В разделе «Выводы» автором сформулированы ключевые выводы, полученные в работе. Выводы, соответствуют поставленным задачам корректно обобщают полученные данные. Каждое положение логично вытекает из результатов, что демонстрирует завершенность исследования и достижение его поставленных целей.

Автореферат диссертации отражает основные положения работы и ее значимость для науки и практики. Основные положения, представленные в автореферате, изложены корректно и подтверждают результаты, описанные в диссертации.

Знакомство с диссертационной работой вызвало ряд вопросов и замечания. Все они носят дискуссионный характер и не влияют на общее положительное впечатление, вызванное исследованием.

1. В исследование были включены пациенты и здоровые добровольцы обоих полов; соотношение мужчин и женщин в разных группах несколько

различалось. Были ли обнаружены какие-либо половые различия в детектируемых/исследуемых белках.

2. Какие единицы указаны на оси ОХ на рис. 8 (и других подобных рисунках), на легенде тепловой карты рисунка 10 (и других тепловых карт)?
3. С чем связано, что часть исследований была выполнена на сыворотке, а часть на плазме? Было ли проведено сопоставление качества выделения экзосом для из сыворотки и плазмы?
4. При описании анализа функционального обогащения не указано, какой набор референтных белков был использован: все экспрессируемые или все детектируемые? Насколько, по мнению автора, имеет биологический смысл обсуждение значимо обогащенных функциональных категорий, включающих лишь несколько белков (например, два белка)?
5. При сравнении содержания некоторых белков, входящих в протеомные сигнатуры, обнаружены высокие коэффициенты корреляции. Может ли это быть связано с общими механизмами, регулирующими экспрессию этих белков (раковыми) клетками? Были ли обнаружены белок-белковые взаимодействия между такими белками?
6. Есть ли какие-либо данных, показывающие, что белки, определенные в везикулах как протеомные сигнатуры, экспрессируются из раковых клеток?
7. Как на рисунке обозначены разные стадии заболевания?
8. Одно из направлений требующее дальнейших исследований – это поиск протеомных сигнатур разных стадий рака. Какие перспективы/подходы могут быть предложены в этом направлении, возможно ли использование для этой цели профиля белков, входящих в протеомную сигнатуру (например, за счет присваивания веса (значимости) для каждого из белков, входящих в сигнатуру)?
9. Пожалуй, наиболее важный вопрос, возникающий при знакомстве с работой: какие, по мнению автора, имеются перспективы для внедрения результатов, полученных в работе, в практику? Насколько решаемы

проблемы связанные с объемом крови, необходимым для выделения внеклеточных везикул, оптимизацией пробоподготовки для выделения везикул и направленного масс-спектрометрического анализа для рутинных исследований?

Заключение

Диссертационная работа Соловьевой Натальи Александровны «Протеомные сигнатуры внеклеточных везикул аденокарциномы легкого и колоректального рака» является законченной научной работой, выполненной на высоком методическом уровне, полностью отвечает требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 года, а ее автор Соловьева Наталья Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 – биохимия.

Официальный оппонент, доктор биологических наук,
Специальность: 03.03.01 – «Физиология»
профессор РАН, заведующий лабораторией
физиологии мышечной деятельности
ГНЦ РФ ИМБП РАН
Дата: «15» ноября 2024



Попов Даниил Викторович

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации Институт медико-биологических проблем Российской академии наук (ГНЦ РФ – ИМБП РАН),
Почтовый адрес:
Хорошевское шоссе 76 А, Москва, 123007, Россия,
телефон: +7 (499) 195-2363, Электронная почта: doc@imbp.ru

Данные Попова Д.В. подтверждаю
Ученый секретарь
ГНЦ РФ ИМБП РАН
Доктор биологических наук



Левинских Маргарита Александровна